

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Neurovědy



MUDr. Petr Dušek

Kortikální a subkortikální mechanismy vnímání času

Cortical and subcortical mechanisms of time perception

Dizertační práce

Školitel: Doc. MUDr. Robert Jech, Ph.D.

Praha, 2011

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 20.6.2011

Petr Dušek

Identifikační záznam:

DUŠEK, Petr. *Kortikální a subkortikální mechanismy vnímání času. [Cortical and subcortical mechanisms of time perception]*. Praha, 2011. Počet stran 108. Dizertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Neurologická klinika. Školitel: Doc. MUDr. Robert Jech, PhD.

Poděkování

Můj velký dík a obdiv patří školiteli Doc. Robertu Jechovi a mým učitelům Prof. Evženu Růžičkovi a Prof. Janu Rothovi, kteří mě po celou dobu postgraduálního studia vedli správným směrem. Tato práce by nikdy nevznikla bez významného odborného i lidského přispění ostatních spoluautorů: PhDr. Jiřího Wackermanna, Karstena Müllera a Prof. Josefa Vymazala.

Za podporu a trpělivost ve finální fázi přípravy dizertační práce děkuji na prvním místě Evě Balážiové, dále Lence Plchové, Tomáši Uhrovi, Petře Havránkové a Marku Nyklovi.

Abstrakt

Poruchy percepce času byly popsány u fokálních lézí mozku a u řady neuropsychiatrických onemocnění včetně Parkinsonovy nemoci (PN). Naším cílem bylo nalézt oblasti mozku, které se podílejí na percepci času u zdravých osob a jejichž dysfunkce je zodpovědná za poruchy percepce času u PN. Použili jsme úlohu reprodukce časových intervalů (TRT) spočívající ve vizuální prezentaci časových intervalů v rozsahu 5 až 16.8 s (fáze prezentace), které jsou následně reprodukovány pomocí stisku tlačítka (fáze reprodukce).

V první fMRI studii se pomocí parametricky modulované analýzy podařilo nalézt oblasti, jejichž aktivita měřená pomocí Blood Oxygenation Level Dependent (BOLD) signálu korelovala s délkou časového intervalu. Během fáze prezentace byla zjištěna postupná deaktivace v levém prefrontálním kortexu (PFC) a pravém cingulu. Ve fázi reprodukce došlo k postupné deaktivaci precuneu bilaterálně a k akumulaci aktivity v levém PFC, motorické kůře, pravém kaudátu a suplementární motorické oblasti (SMA). Cílem druhé studie bylo pomocí repetitivní transkraniální magnetické stimulace (rTMS) prokázat roli dvou oblastí z naší předchozí studie, SMA a precuneu, v úloze TRT. Pomocí rTMS jsme se pokusili ovlivnit přesnost a variabilitu reprodukcí časových intervalů. Neprokázali jsme vliv rTMS ani jedné oblasti na přesnost odhadů, došlo však k významnému snížení variability odhadů 10 s intervalu po rTMS SMA. Třetí fMRI studie se zúčastnilo 12 pacientů s PN, kteří byli vyšetřeni dvakrát: na dopaminergní medikaci (ON) a po jejím celonočním vysazení (OFF). Cílem bylo porovnat mozkovou aktivitu při úloze TRT v OFF a ON stavu a nalézt příčinu poruchy percepce času u PN v OFF stavu. V OFF stavu došlo k nadhodnocení odhadů intervalů <11.89 s a podhodnocení intervalů >14.14 s. Ve fázi reprodukce byla snížená aktivita v precuneu v OFF stavu. Podrobná analýza ukázala postupný pokles aktivity precuneu v OFF stavu při odhadech intervalů >14.14 s, zatímco v ON stavu byla aktivita konstantní.

Podařilo se zobrazit několik oblastí mozku, jejichž aktivita klesá či roste s délkou intervalu a mohou tedy sloužit k měření uběhnutého času jako takzvané „akumulátory“, což svědčí proti existenci jedné oblasti pro percepci času. Pomocí rTMS SMA jsme prokázali roli této oblasti v percepci času. Selektivní snížení variability odhadů 10 s intervalu mohlo být způsobeno zvýšením síly oscilací o frekvenci 0.1 Hz. U pacientů s PN v OFF stavu dochází k odlišné aktivaci precuneu v porovnání s ON stavem. Vyšší aktivita precuneu během odhadu časových intervalů u PN v ON stavu svědčí pro kompenzační zapojení této oblasti při vybavování paměťové stopy o délce časového intervalu.

Summary

Deficits in interval timing have been described in focal brain lesions and in various neuropsychiatric disorders including Parkinson's disease (PD). The aim of this study was to explore brain areas responsible for human time perception and for the timing deficit in PD. We used a time reproduction task (TRT) which consisted of an encoding phase (during which visual stimuli of durations from 5 to 16.6 sec were presented) and a reproduction phase (during which interval durations were reproduced by a button pressing).

In our first fMRI study, we used a parametric modulated analysis searching for brain areas with activity, expressed as Blood Oxygenation Level Dependent (BOLD) signal, correlated with the duration of time interval. During the encoding phase, there was a gradual deactivation of the left prefrontal cortex (PFC) and cingulate gyrus. During the reproduction phase, there was a gradual deactivation in precuneus and an accumulation of activity in the left PFC, primary motor area, right caudate and supplementary motor area (SMA). The second study aimed at supporting the role of two of these areas, SMA and precuneus in interval timing by repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS). Accuracy and variability of time estimates were compared before and after rTMS. Accuracy of estimates was not affected, however, decreased variability of estimates of the 10 seconds interval after rTMS of SMA was observed. In the third fMRI experiment, brain activation (BOLD signal) during time reproduction task in PD patients on dopaminergic medication (ON condition) and after dopaminergic medication withdrawal (OFF condition) was compared. Time intervals with duration <11.89 s were overestimated, whereas those with duration >14.14 s were underestimated. During the reproduction phase, lower activation in the precuneus was found in the OFF condition. Further analysis showed that activity in time intervals with duration >14.14 s gradually decreased in the OFF, while remained constant in the ON condition.

Our results show that there are several brain areas with activity that correlates with time interval duration and thus potentially serving as a hypothetical "accumulator". This argues against the existence of single brain area dedicated to timing. We further supported the role of SMA in time perception by rTMS. Selective effect on the 10 second interval might be a consequence of increased power of an oscillator with 0.1 Hz frequency. Differences in precuneus activation in the OFF condition may underlie time perception deficit in PD. We suggest that DA medication enables compensatory activation in the precuneus which improves retrieval of the remembered duration.

OBSAH

1. Úvod.....	10
1.1. Délka časových intervalů a hranice percepce času.....	10
1.1.1. Milisekundy.....	10
1.1.2. Sekundy.....	11
1.1.3. Minuty a delší intervaly.....	12
1.2. Metodika výzkumu percepce času.....	12
1.3. Mechanismy percepce času	15
1.3.1. Modely bez vnitřních hodin	15
1.3.2. Modely předpokládající existenci vnitřních hodin.....	16
1.4. Fyziologické faktory způsobující distorze subjektivní percepce času.....	20
1.5. Distorze percepce času psychoaktivními látkami.....	22
1.5.1. Dopaminergní systém.....	22
1.5.2. Cholinergní systém.....	23
1.5.3. Halucinogeny	23
1.6. Distorze času u neuropsychiatrických onemocnění.....	24
1.6.1. Parkinsonova nemoc	24
1.6.2. Huntingtonova nemoc	25
1.6.3. Schizofrenie.....	26
1.6.4. Porucha pozornosti s hyperaktivitou	26
1.6.5. Depersonalizace a derealizace.....	27
1.7. Neuroanatomické podklady percepce času.....	27
1.7.1. Mozeček	28
1.7.2. Bazální ganglia	30
1.7.3. Suplementární motorická oblast.....	30
1.7.4. Dorsolaterální prefrontální kortex	31
1.7.5. Posteriošní parietální kortex	32
1.7.6. Insulární kortex a frontální operculum.....	33
1.8. Shrnutí a východisko pro naše studie	33

2.	Cíle a hypotézy práce	34
3.	Použitá metodika.....	35
3.1.	Úloha reprodukce časových intervalů (TRT)	35
3.2.	Funkční magnetická rezonance	36
3.3.	Transkraniální magnetická stimulace	39
4.	Popis jednotlivých studií.....	42
4.1.	Studie I – mozkové oblasti s vlastností časového akumulátoru dle fMRI.....	42
4.1.1.	Úvod.....	42
4.1.2.	Metodika.....	43
4.1.3.	Výsledky.....	44
4.1.4.	Diskuze.....	50
4.2.	Studie II – ovlivnění odhadů času pomocí rTMS SMA a precuneu.....	52
4.2.1.	Úvod.....	52
4.2.2.	Metodika.....	52
4.2.3.	Výsledky.....	53
4.2.4.	Diskuze.....	55
4.3.	Studie III – Neurofyziologický podklad poruchy percepce času u PN	56
4.3.1.	Úvod.....	56
4.3.2.	Metodika.....	56
4.3.3.	Výsledky.....	57
4.3.4.	Diskuze.....	62
5.	Závěry	63
6.	Seznam zkratk	64
7.	Literatura.....	65
8.	Příloha I – seznam publikací.....	74
9.	Příloha II – publikace in extenso.....	76

1. Úvod

Jako součást přizpůsobení prostředí se u živočichů rozvinuly neurobehaviorální mechanismy, které umí analyzovat periodické jevy a předvídat jejich výskyt v budoucnosti. Podobné mechanismy dokážou měřit délku časových intervalů a fungují jako jakési stopky.

Lidský mozek umí vnímat a vyhodnotit časové intervaly v rozsahu deseti řádů. Rozdíly v řádu mikrosekund, které trvají zvuku, než doletí od jednoho ucha k druhému, jsou pravděpodobně využívány k prostorové lokalizaci zdroje zvuku. V periodě řádu hodin probíhají cirkadiánní cykly spánku a bdění a sekrece hormonů. Neurofyzilogické mechanismy, které zodpovídají za správné načasování pohybů, rozumění a produkci řeči, hudby i tance a v neposlední řadě i za naše subjektivní vnímání plynutí času, pracují v intervalech řádu stovek milisekund až desítek minut.

Ačkoliv si to většinou neuvědomujeme, čas je velmi důležitý aspekt zpracování informací z prostředí a načasování motorické odpovědi. Ať už vaříme oběd a potřebujeme vědět v který okamžik přidat správné ingredience a zároveň nic nepřipálit nebo když při dlouhém čekání na autobusové zastávce začneme přemýšlet, jestli není možné, že nám autobus ujel nebo jsme se špatně podívali do jízdního řádu, vždy jsou to naše „vnitřní hodiny“, které nám poskytnou potřebné informace. Uvědomování si plynutí času (chronestézie) je součástí proudu vědomí.

Náš subjektivní pocit plynutí času je ovlivněn nejen řadou fyziologických okolností, jako je věk, okamžité zaměření pozornosti či intenzita a valence prožívaných emocí ale i účinkem psychoaktivních látek (halucinogeny), léků (dopaminergní agonisté a antagonisté) a patologických stavů jako jsou Parkinsonova nemoc, schizofrenie, porucha pozornosti s hyperaktivitou nebo léze různých mozkových struktur (mozeček, frontální kortex, bazální ganglia).

1.1. Délka časových intervalů a hranice percepce času

1.1.1. Milisekundy

Práh simultaneity je minimální čas, který musí uplynout mezi dvěma událostmi, aby byly vnímány jako sukcesivní, nikoliv současné. Práh simultaneity je rozdílný pro jednotlivé senzorické modality, pro akustické stimuly je 3ms, zatímco pro zrakové a taktilní 10ms. Stimuly oddělené kratším časovým intervalem jsou pro člověka pod prahem diskriminace a jsou vnímány jako jeden vjem. Pro určení, která z událostí proběhla dříve a která později, je

však nezbytné, aby byly stimuly odděleny aspoň intervalem 20-40ms (Poppel, 2004). Tento práh určení pořadí není závislý na senzorické modalitě. 40ms je pravděpodobné integrační jednotka pro zpracování vjemů z jednotlivých senzorických modalit sloužící k eliminaci fázového časového rozdílu mezi senzorickými vstupy (např. zrakový vjem otevírání úst a sluchový vjem řeči) a rychlosti jejich zpracování mozkiem. Díky tomuto integračnímu oknu je možné vytvoření jednotného multisenzorického obrazu vnímané skutečnosti. Pořadí vjemů přicházejících během jedné integrační periody není možné určit, jedná se o „percepční moment“ (Poppel, 2004).

Člověk je nejcitlivější k časovým intervalům v délce 400-700ms, které jsou reprodukovány s nejnižší variabilitou a nejsou nadhodnocovány ani podhodnocovány (Fraisse, 1984). Při úloze spontánního preferovaného motorického tempa, kdy má subjekt produkovat tempo (například vyťukáváním), které je mu subjektivně nejpříjemnější, mladí dospělý nejčastěji zvolí tempo 400-600ms, zatímco senioři volí pomalejší tempa (Baudouin et al., 2004; MacDougall and Moore, 2005; Vanneste et al., 2001). Individuální preferované tempo je dle některých autorů odrazem rychlosti chodu „vnitřních hodin“ (Collyer et al., 1994) a v běžném životě se projeví při rytmických pohybech jako je chůze nebo potlesk.

Měření času v řádu milisekund je spíše perceptivní a automatické. Diskriminace milisekundových intervalů je nutná pro produkci a porozumění hudbě a řeči a pro koordinaci motorického projevu, například při tanci. Přesnost diskriminace milisekundových intervalů není ovlivněna současně prováděnou kognitivní úlohou, zatímco diskriminace sekundového intervalu ano (Rammsayer and Lima, 1991), což svědčí pro minimální zapojení kognitivních oblastí mozku při měření milisekundových intervalů. Dle studií s funkční magnetickou rezonancí (fMRI) odpovídá za měření milisekundových intervalů síť mozkových oblastí skládající se především ze suplementární motorické oblasti (SMA), primární motorické a somatosenzorické oblasti (SM1). Tato síť je aktivována zejména při úlohách s milisekundovými intervaly, které se pravidelně opakují a při kterých je vyžadována motorická odpověď (Lewis and Miall, 2003).

1.1.2. Sekundy

Subjektivní okamžik je interval kolem 2-3 sekund, ve kterém je integrována vědomá aktivita a vyvolává celistvý prožitek přítomnosti „ted“. Proces vědomého myšlení je dle některých teorií automaticky segmentován na 3 sekundové úseky, kterým se říká „integrační okno“

(Poppel, 2004). Pokud jsou dvě události (např. údery metronomu) od sebe oddělené intervalem kratším než 2.5 sekundy, mozek si je spojí v souvislý celek a vznikne prožitek rytmu, zatímco delší latence způsobí, že jsou události vnímány odděleně (Wackermann, 2007). S tím souvisí i to, že diskriminace a reprodukce intervalů kratších než 2-3 sekundy jsou velmi přesné, ale variabilita odhadů začne vzrůstat u delších intervalů. Dle některých autorů je přesnost odhadů časových intervalů méně přesná již nad hranicí 1-1.5 sekundy a u odhadů delších intervalů je adaptivní použití strategie segmentace intervalu, například počítáním čísel (Lavoie and Grondin, 2004).

Intervaly od 3 do několika desítek (cca 100) sekund tvoří současnost přístupnou vnímání „sensible present“. V tomto časovém okně, jehož rozsah je závislý na kapacitě paměti, je čas přístupný vědomé percepci a po překročení této hranice se současnost mění v minulost a uběhlý čas může a nemusí být uložen do paměti (Wackermann, 2007). Přesnější označení, než percepce času je percepce trvání sensorického podnětu. V psychofyzice se při odhadech intervalů v tomto časovém pásmu hovoří o měření časových intervalů (interval timing). Dle fMRI studií existuje síť oblastí mozku pro kognitivní měření času, která se aktivuje při odhadu diskrétních supra-sekundových intervalů, nezávisle na motorické či verbální odpovědi a skládá se z asociačních oblastí mozku: SMA, dorzolaterálního prefrontálního kortexu (DLPFC) a pravostranného posteriorního parietálního kortexu (PPC) (Lewis and Miall, 2003).

1.1.3. Minuty a delší intervaly

Mozek nemá kapacitu pozornosti pro kontinuální percepci stimulů trvajících déle než několik desítek sekund a měření času v řádu minut, hodin a dnů je kognitivní rekonstrukcí, pro kterou je nutná funkce dlouhodobé epizodické paměti (Wackermann, 2007). K určování času v tomto řádu mozek používá zapamatované události jako časová vodítka. Uběhnutý čas je zřejmě v paměti uložen v komprimovaném stavu jako posloupnost důležitých událostí. Subjektivní pocit délky uplynulého času může být funkcí počtu uložených událostí v paměti (Grondin, 2010).

1.2. Metodika výzkumu percepce času

Zatímco úlohy udržování rytmu, odhadnutí trajektorie pohybujícího se předmětu nebo načasování podmíněného reflexu odráží spíše implicitní, automatické, pochody nezávislé na našem vědomí, úlohy produkce, reprodukce či zpětného odhadu časových intervalů jsou komplexními kognitivními úlohami. Percepci času v těchto úlohách není možné jednoduše

oddělit od pozornosti a paměti a řada experimentálních postupů a kognitivních modelů spojuje percepci času, pozornost a paměť. Retrospektivní paměť obsahuje řadu informací týkající se času: délku trvání určitého podnětu, kolik času uběhlo od události a posloupnost událostí v čase. Prospektivní paměť je naopak schopnost naplánovat určitou činnost, udržet plán v paměti a spustit jej v určitý čas, například za 5 minut či v 5 hodin odpoledne (Grondin, 2010).

Existuje řada úloh, které vyžadují většinou velmi přesné, nevědomé, implicitní měření trvání podnětu nebo načasování pohybu jako například řeč, produkce hudby nebo i chycení míče. Schopnost přesného načasování motorického úkonu lze studovat pomocí úlohy udržování tempa (tab. 1). Zkoumá se jednak schopnost udržení naučeného tempa a jednak rychlost spontánního tempa. Studování implicitního měření času ve zrakové modalitě umožňují úlohy zaměřené na odhad, kdy se objekt pohybující se konstantní rychlostí dostane do určitého místa (time-to-arrival) (Grondin, 2010).

Oproti těmto úlohám se výzkum percepce času zaměřuje na vědomé kognitivní explicitní odhady uplynulého času. Existují dva základní typy úloh, při kterých pokusné subjekty odhadují dobu trvání určitého podnětu. U prvního typu jsou upozorněny, že při úloze budou odhadovat čas (prospektivní odhady), zatímco u druhého typu dopředu upozorněny nejsou a jsou vyzvány až zpětně, aby odhadly dobu trvání podnětu (retrospektivní odhady) (Grondin, 2010; Zakay, 1993). Úloha reprodukce časových intervalů a verbálního odhadu doby uplynulého časového intervalu mohou mít retrospektivní i prospektivní design, zatímco úloha produkce časového intervalu je vždy prospektivní (tab. 1). Existuje několik typů úloh založených na porovnání dvou časových intervalů. Nejjednodušší je úloha, při které je standardní interval vždy prezentován před porovnávaným intervalem. Subjekt musí rozhodnout (forced choice design), zda je porovnávaný interval delší či kratší, než standardní. Používá se i úloha detekce deviací v sekvencích presentovaného rytmu, která spočívá v prezentování rytmu několika tónů, přičemž délka intervalu mezi dvěma tóny je v některých repetičích změněna. Subjekt je vyzván, aby indikoval, když zaznamená deviaci rytmu. Alternativou jsou takzvané metody jednoho stimulu, které spočívají v naučení standardního intervalu, který následně již není prezentován. Metoda časové generalizace (temporal generalization) spočívá v tom, že se subjekt naučí standardní interval a má určit zda následující intervaly jsou nebo nejsou stejně dlouhé jako standard. Tyto úlohy porovnání časových intervalů jsou zaměřeny na hledání diskriminačního prahu, tedy nejmenšího rozdílu

mezi standardním a porovnávaným intervalem, který je schopen subjekt spolehlivě postihnout (Grondin, 2010). Další typem metody jednoho stimulu je časová bisekce (temporal bisection), při které je subjekt nejprve naučen dva standardní intervaly, krátký a dlouhý. Následně jsou subjektu prezentovány intervaly délky mezi dvěma zapamatovanými standardy (včetně standardů) a subjekt má rozhodnout, zda je prezentovaný interval blíže krátkému či dlouhému intervalu. Výstupem je graf pravděpodobnosti označení intervalu, jako dlouhého v závislosti na délce porovnávaného intervalu (Grondin, 2010).

Tab. 1: Úlohy používané při neuropsychologickém výzkumu vnímání času

Implicitní měření času	
udržování rytmu	Subjekt je vyván k vytūkávání rytmu, obvykle nejdříve probíhá fáze synchronizace dle metronomu (nebo blikání diody), a následně probíhá fáze produkce, kdy je subjekt vyzván k spontánnímu pokračování v produkci naučeného tempa.
určení doby trajektorie pohybujícího se předmětu	Podnět pohybující se konstantní rychlostí na obrazovce v nějakém místě zmizí a subjekt má stiskem tlačítka odhadnout, kdy objekt dorazí do určeného místa.
Explicitní odhady časových intervalů	
reprodukce časového intervalu	Subjekt si nejprve zapamatuje dobu trvání určitého intervalu, jež následně reprodukuje stiskem tlačítka.
produkce časového intervalu	Subjekt je vyzván, aby stiskem tlačítka indikoval uplynutí určeného intervalu (např. 10 s).
verbální odhad časového intervalu	Subjektu je prezentován určitý interval, jehož dobu trvání má následně verbálně odhadnout.
porovnání doby dvou časových intervalů	Subjektu je(jsou) prezentován(y) standardní interval(y) a následně porovnávaný interval. Subjekt má za úkol určit, zda je porovnávaný interval shodný nebo rozdílný respektive, jestli je kratší či delší než standard.

1.3. Mechanismy percepce času

Obečně existují dva typy neuropsychologických modelů percepce času. Dle prvního z nich je vnímání času nedílná implicitní součást zpracování senzorické informace či plánování motorické odpovědi, zatímco druhý předpokládá existenci specifického systému (vnitřních hodin) určeného pro percepci času. Dle prvního modelu není doba trvání podnětu explicitně měřena a tedy přístupna vědomí, ale vjem uběhnutého času vyplývá ze struktury a posloupnosti vnímaných podnětů. Druhý model předpokládá, že doba trvání podnětu je zpracována specifickými oblastmi mozku, podobně jako výška tónu nebo barva obrazu a je přístupna vědomému vnímání. Je velmi pravděpodobné, že lidský mozek dokáže využívat oba tyto modely percepce času v závislosti na typu úlohy.

1.3.1. Modely bez vnitřních hodin

Měření času dle vývoje stavu neuronálních sítí (State dependent network)

Tento model navrhuje, že samotné změny v neuronálních sítích při zpracovávání senzorické informace mohou být použity pro měření času. Krátkodobá plasticita neuronálních sítí může být podkladem paměti v řádu milisekund a tedy i měření času (Eagleman et al., 2005). Dle této teorie je měření času v mozku distribuováno v rozsáhlých sítích jako prostorový vzorec aktivity měnící se dle určitých zákonitostí v čase a není závislé na činnosti jedné či několika centralizovaných oblastí (Karmarkar and Buonomano, 2007).

Paměťově založené modely

Na základě studií s retrospektivními odhady (tj. odhad o délce je učiněn po uplynutí časového intervalu, kdy subjekt neví, že provádí úlohu s vnímáním času) byl vypracován model založený na velikosti uložené informace. Podle něj je subjektivně uplynulý čas pouze vedlejším produktem zpracování smyslových informací a je tím delší, čím více vjemů a čím komplexnější vjemy jsou zpracovány. Modely vycházející z tohoto předpokladu se nazývají paměťově založené (Grondin, 2010).

Modalitně specifické hodiny

Existuje řada důkazů, že doba trvání sluchových a zrakových podnětů je vnímána rozdílně, což vede k závěru, že mechanismy měření času jsou rozdílné v jednotlivých senzorických doménách. Čas trvání by tedy mohl být základním aspektem percepce senzorického podnětu,

který je měřen implicitně již na úrovni primární sensorické oblasti. Pro modalitně specifické měření sub-sekundových intervalů svědčí celá řada empirických dat. Vyšší sensitivita k času, nižší diskriminační práh a nižší variabilita je pozorována u sluchových podnětů v porovnání se zrakovými. Sluchové podněty jsou subjektivně vnímány jako delší v porovnání se zrakovými (Goldstone and Lhamon, 1974; Penney et al., 2005). Sakadické oční pohyby zkreslují subjektivní trvání vizuálních, ale nikoliv sluchových stimulů (Morrone et al., 2005). Repetitivní transkraniální magnetická stimulace (rTMS) sekundární zrakové oblasti V5 způsobila poruchu diskriminace zrakově, ale nikoliv sluchově prezentovaných sub-sekundových intervalů (Bueti et al., 2008a), zatímco rTMS pravostranného horního temporálního laloku porušila diskriminaci sluchově prezentovaných časových intervalů (Bueti et al., 2008b).

1.3.2. Modely předpokládající existenci vnitřních hodin

Oscilátorové systémy

Teorie dynamického zaměření pozornosti (Dynamic attending theory)

Jevy, které se vyskytují pravidelně, jsou na základě své pravidelnosti předvídatelné. Pro organismus je výhodné synchronizovat zaměření pozornosti s rytmem opakujících se jevů v prostředí. Model vycházející z těchto skutečností je tvořen dvěma komponentami, oscilátorem a zaměřenou pozorností (Jones and Boltz, 1989). Perioda a fáze oscilátoru se může postupně přizpůsobit pravidelně se vyskytujícím jevům v prostředí a synchronizovat se tak s nimi (McAuley and Jones, 2003). Pro tuto teorii svědčí řada empirických dat a zdá se, že mozek je velmi citlivý na periodicky se opakující události. Při úloze opakovaného reakčního času (serial reaction time task) má pokusný subjekt za úkol co nejdříve po objevení se podnětu na některém místě obrazovky zmáčknout tlačítko asociované s místem, kde se podnět objevil. Pokud se podnět objevuje opakovaně na stejných místech a se stejnými latencemi, reakční čas pokusné osoby se postupně zkracuje. Neurony primární motorické (Brodmanova area - BA4) i premotorické (BA6) oblasti zvyšují synchronicitu pálení v okamžiku, kdy se blíží signál k zahájení pohybu (Renoult et al., 2006; Riehle et al., 1997). Toto svědčí, pro synchronizaci vnitřních hodin s rytmem úlohy (Nobre et al., 2007). Stejně tak se plynulé oční pohyby velmi rychle přizpůsobují pravidelnému pohybu sledovaného objektu (Barnes and Asselman, 1991; Barnes et al., 2005) a latence očních sakád se snižuje, pokud jsou zaměřeny na v čase se pravidelně objevující cíl (Kingstone and Klein, 1993). Pokud se stimuly objevují

v očekávaném čase, zlepšuje se diskriminační práh pro jejich jas (Lasley and Cohn, 1981) i prostorovou orientaci (Wehrhahn and Westheimer, 1993).

Teorie neuronálních oscilátorů (Multiple oscillator theory)

Tyto modely předpokládají existenci periodických (oscilujících) procesů v mozku s různou frekvencí, pomocí nichž mozek může měřit čas. Oscilátory mají charakter periodických neuronálních procesů a bylo navrženo, že mozek disponuje několika oscilátory s periodou od 0.2 do 204 sekund (Collyer et al., 1994; Crystal et al., 1997; Church and Broadbent, 1990). Jako základní oscilátor podílející se na měření času byl navržen i alfa-rytmus (Holubar, 1958; Holubar, 1959). Pokud mozek měří čas pomocí oscilátorů, měla by být citlivost odhadů časových intervalů blízkých frekvenci oscilátoru výrazně vyšší. Člověk má nejvyšší citlivost v pásmu sub-sekundových intervalů pro tempa s periodou 400-700 ms (Fraisse, 1984). Pokusy na potkanech ukázaly, že mají v pásmu supra-sekundových intervalů nejvyšší citlivost pro časové intervaly mezi 8-12 sekundami (Crystal, 2001).

Byl navržen model detekce koincidencí, dle kterého bazální ganglia detekují stav kortikálních oscilátorů o různé frekvenci. Dle této teorie dopaminergní signál vyslaný ze substantia nigra (SN) do striata synchronizuje kortikální oscilátory a spouští tak „neuronální stopky“. Významný časový interval kódovaný specifickým stavem jednotlivých oscilátorů je posílen na příslušných kortiko-striálních synapsích pomocí long-term potentiation (LTP). Stav jednotlivých oscilátorů v daný okamžik tak může kódovat uběhnutý čas (Lustig et al., 2005; Matell and Meck, 2004).

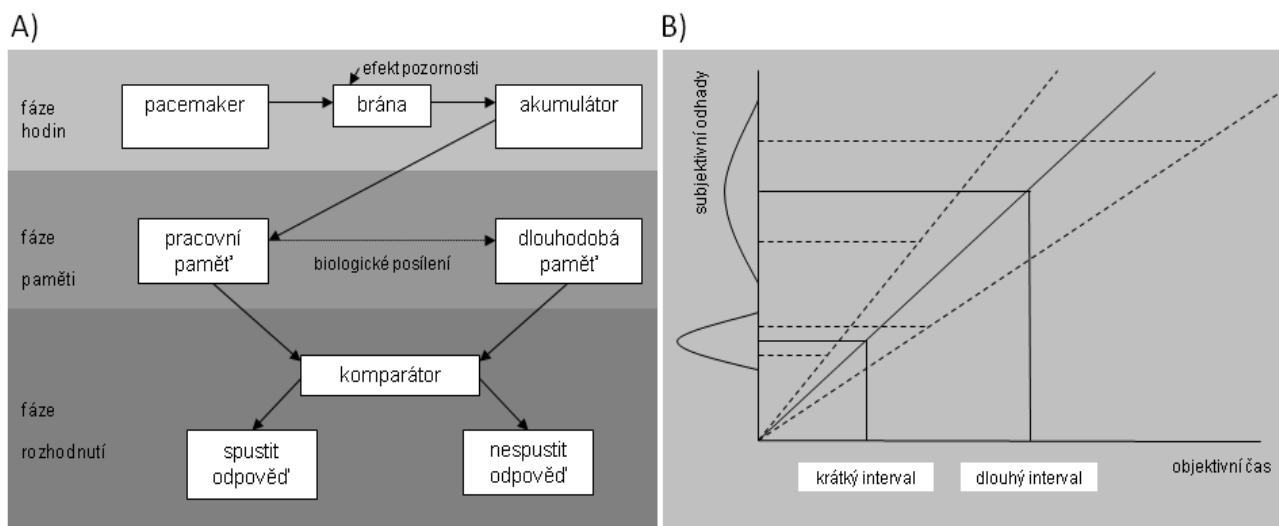
Akumulátorové systémy

Existují dva typy hodin založených na akumulátoru, s generátorem pulzů (pacemakerem) a bez pacemakeru. Pacemaker je generátor vydávající v pravidelných intervalech pulzy, které jsou shromažďovány v akumulátoru. Měření času pomocí akumulátoru nezbytně nevyžaduje pacemaker, tedy „tikot“ hodin. Příkladem jsou přesýpací nebo vodní hodiny a jejich analogií v mozku může být plynule rostoucí nebo klesající frekvence pálení populace neuronů, která byla popsána při úlohách, které vyžadují odpověď zpožděnou o několik sekund vzhledem k prezentovanému stimulu (delayed response task) v neuronech striata (Apicella et al., 1992), DLPFC (Niki and Watanabe, 1979), PPC (Leon and Shadlen, 2003) a SMA (Mita et al., 2009).

Lineární model pacemaker-akumulátor (Scalar expectancy theory)

Z prospektivních studií, kdy je pozornost subjektů zaměřena na vnímání času (tj. na pozornosti založené modely) je odvozen Churchův-Gibbonův model vnitřních hodin (Gibbon et al., 1997), který je zřejmě ze všech modelů nejznámější a nejčastěji používaný k vysvětlení behaviorálních dat ze zvířecích, ale i lidských experimentů (Obr. 1A). Zahrnuje fázi hodin - generátor pulzů a akumulátor (čítač vygenerovaných pulzů), které s určitou frekvencí generují a počítají časové značky - pulzy (Treisman, 1963). Akumulovaný subjektivní čas (v podobě počtu pulzů) se příležitostně stane biologicky významným a uloží se do dlouhodobé paměti (paměťová fáze) pro pozdější porovnání s aktuální hodnotou (počtem pulzů) v pracovní paměti. Ve chvíli, kdy vnější čas (tj. počet pulzů) je shodný s dříve zapamatovaným časem, je spuštěna behaviorální odpověď (fáze rozhodnutí). Pokud se nějakým způsobem zrychlí chod vnitřních hodin, dosáhne se při prospektivních úlohách daného počtu pulzů dříve a produkované intervaly budou podhodnocené. Naopak při retrospektivních odhadech uběhnutého intervalu se stihne naakumulovat větší počet pulzů a odhad bude nadhodnocený. Opačný efekt nastane při zpomaleném chodu vnitřních hodin. Model vysvětluje i fakt, že časové odhady jsou tím přesnější, čím více pozornosti jim věnujeme (Meck, 1984). Pokud se subjekt soustředí na jinou úlohu než odhad času, nastává interference v důsledku které některé pulzy neprojdou bránou a menší počet naakumulovaných pulzů způsobí, že odhady času jsou podhodnocené (Brown, 1997; Brown and Boltz, 2002; Zakay and Shub, 1998). Na kterékoliv z fází hodiny, paměť nebo rozhodnutí se mohou do systému dostat šum v podobě náhodných chyb a tudíž je odhad intervalu gausovsky rozložen kolem průměru, který je shodný s odhadovaným intervalem s rozptylem odhadů přímo úměrným délce intervalu. Koeficient variace, tedy podíl směrodatné odchylky a průměru $\gamma = \sigma/\mu$ zůstává konstantní (Obr. 1B). Jedná se o formu Weberova zákona o smyslovém vnímání (Gibbon et al., 1997). Pokud jsou dva intervaly různého trvání odhadovány s rozdílným koeficientem variace, je to uznáváno jako důkaz, že na jejich percepci se podílejí rozdílné mechanismy.

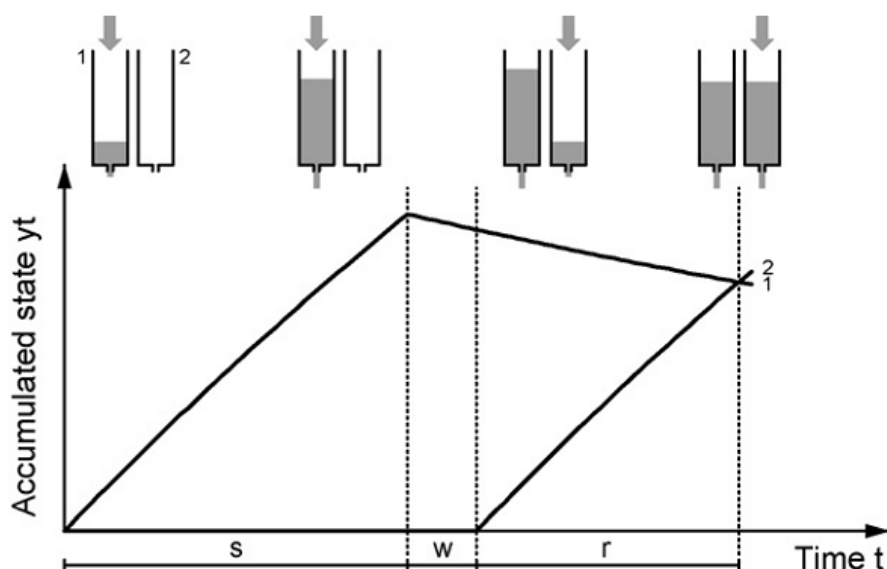
Obr. 1: A) Church-Gibbonův model vnitřních hodin. B) Graf reprodukce dvou intervalů, jejichž průměry odpovídá fyzikální délce odhadovaného intervalu a rozptyl odhadů je jí přímo úměrný.



Model vodních hodin (Dual klepsydra model)

Tento model je založen na analogii se soustavou dvou vodních hodin, které ale částečně „protékají“, čímž je ztracena část naakumulovaného času a odhady uplynulého intervalu jsou podhodnocovány (Obr. 2). Model vysvětluje empirická data odhadů v úloze reprodukce časových intervalů, kdy pokusné subjekty vykazují progresivní podhodnocování délky intervalu úměrně jeho fyzikální délce, což Church-Gibbonův lineární model nevysvětluje (Wackermann and Ehm, 2006).

Obr. 2: Model duálních vodních hodin (dle Wackermann, 2007). Během fáze prezentace intervalu se plní akumulátor jedna až do času t_s , poté dochází k úniku náplně z akumulátoru. Od začátku fáze reprodukce se plní akumulátor dva až do času t_r , který nastane v okamžiku, kdy se náplně akumulátorů vyrovnají. Vzhledem ke kontinuálnímu úniku z akumulátoru je reprodukováný interval podhodnocen.



Model vyhasínání paměťové stopy (Memory decay model)

Dle této teorie může mozek měřit čas, který uplynul od určité události, pomocí vyhasínání paměťové stopy této události. Vyhasínání paměťové stopy, které probíhá určitou rychlostí, může hypoteticky sloužit jako jakýsi negativní „akumulátor“. V mozku by mohlo být více paměťových hodin se specifickými konstantami vyhasínání, které by dokázal měřit intervaly různých délek (Staddon and Higa, 1999).

1.4. Fyziologické faktory způsobující distorze subjektivní percepce času

Klasické modely vnímání času, zejména Church-Gibbonův lineární model, předpokládají, že subjektivně vnímaný čas je velmi blízký reálnému času trvání stimulu. Tento předpoklad však ne vždy odpovídá empirickým datům, která prokazují distorzi percepce času v celé řadě fyziologických situací a to u intervalů v řádu stovek milisekund i u supra-sekundových intervalů.

Perisakadická distorze času vzniká těsně po sakádě a může vést k paradoxní iluzi obrácení pořadí dvou stimulů oddělených 100 ms, pokud jejich prezentace předcházela sakádu o -70 až

-30 ms (Morrone et al., 2005). Perisakadická distorze způsobuje i chronostázi, iluzi zastavení sekundové ručičky po rychlém pohledu na ciferník hodin (Yarrow et al., 2001). Perisakadická distorze času je nejspíše adaptivní mechanismus, kdy mozek posune subjektivní trvání podnětu zpětně v čase těsně před zahájením sakády, aby vyplnil perisakadickou zrakovou supresi a zachoval kontinuitu zrakového vjemu (Yarrow et al., 2001).

Terčový podnět (oddball) prezentovaný mezi řadou stejných stimulů je vnímán jako déletrvající, ačkoliv jeho fyzické trvání je shodné s ostatními stimuly (Tse et al., 2004). Stejně tak je vnímán jako déletrvající i stimulus, který se zvětšuje nebo přibližuje v porovnání se stacionárními či vzdalujícími se stimuly (van Wassenhove et al., 2008; Wittmann et al., 2010). Tyto jevy jsou zřejmě způsobeny alokací více kapacity pozornosti na jevy v prostředí, které mají pro subjekt větší důležitost. Další možností je, že pro vjem těchto odlišných stimulů je zapotřebí větší množství energie, což je subjektivně vyhodnoceno jako jejich delší trvání (Eagleman and Pariyadath, 2009).

Během krátkých, nebezpečných událostí, jako dopravní nehody nebo přepadení, lidé často referují subjektivní pocit zpomalení plynutí času, jakoby události plynuly ve zpomaleném záběru. Bylo navrženo, že je to důsledkem výrazného zrychlení zpracování informací mozkiem způsobené kritickou situací, které budí iluzi, že se okolní svět zpomalil. Tato hypotéza předpokládá, že se v kritických situacích zlepší přesnost vnímání krátkých časových intervalů a tedy sníží práh jejich diskriminace, což se nepotvrdilo v experimentu, kdy pokusné osoby prováděly úlohu vyžadující percepci podnětů oddělených časovým intervalem blízko prahu simultaneity při skoku z 30 metrů (Stetson et al., 2007).

Odhady trvání podnětů mohou být také zkresleny, pokud subjekt sleduje scény se zpomaleným pohybem. Tedy záblesk během zpomaleného záběru je vnímán jako kratší v porovnání se stejně dlouhým zábleskem během záběru přehrávaného normální rychlostí. Toto svědčí pro konstantní kalibraci „vnitřních hodin“ vůči dění v prostředí objektivního světa (Eagleman, 2004).

Pokud vnímáme nějakou událost jako důsledek naší akce (například stisk tlačítka a záblesk na obrazovce), zdá se, že se událost stane dříve, v porovnání s tím, pokud není způsobena naší činností (Eagleman and Holcombe, 2002). Pokud je mezi stisk tlačítka a záblesk na obrazovce vymeženo zpoždění, které je najednou zrušeno, pak je obrácena percepce akce a následku a

vzniká iluze, že záblesk předchází stisk tlačítka. Vysvětlením těchto jevů je zřejmě neustále probíhající motoricko-senzorická kalibrace (Eagleman et al., 2005).

Pokud má subjekt odhadovat více intervalů během jednoho experimentálního bloku, obvykle jsou kratší intervaly nadhodnoceny a delší podhodnoceny. Dojde tedy například k tomu, že interval 5s je reprodukován jako 6s a 17s jako 15s. Tento fenomén se nazývá Vierodtův zákon a je vysvětlován na základě vytvoření reprezentativního průměrného podnětu během experimentu. Tento průměrný podnět mozek využívá tím více, čím jsou měření méně spolehlivá, například když roste obtížnost úlohy (Buetti and Walsh, 2010). Bylo prokázáno, že odhady sub-sekundových intervalů jsou rovněž ovlivněny kontextem, tedy např. 600 ms interval je reprodukován jako kratší pokud je prezentován mezi intervaly v rozmezí 400-600 ms, než pokud je prezentován mezi intervaly v rozmezí 600-800 ms (Jazayeri and Shadlen, 2010).

Odhad délky vizuálně prezentovaného intervalu závisí i na poloprostoru zrakového pole, v kterém je prezentován. Stimuly v levostranném zrakovém poli jsou nadhodnocované, zatímco v pravostranném poli nadhodnocované (Vicario et al., 2008). Na základě těchto skutečností byla postulována teorie o kognitivní reprezentaci času pomocí prostorových koordinát a existenci hypotetické mentální časové linie jdoucí zleva doprava (Basso et al., 1996; Koch et al., 2009).

Subjektivní dobu trvání podnětu mění i emoce. Pokusné osoby nadhodnocovaly dobu zobrazení tváří vyjadřující zlost v porovnání s neutrálním výrazem. Stejný efekt byl pozorován i u výrazu štěstí a smutku, ale v menší míře (Droit-Volet and Gil, 2009; Droit-Volet and Meck, 2007; Gil et al., 2007). Příčinou je zřejmě větší množství pozornosti věnované sociálně významnějšímu podnětu. Další studie prokázala, že efekt emoční valence (pozitivní nebo negativní) na vnímání času závisí na intenzitě (arousal) emoce. Podněty vzbuzující negativní emoce vedly k nadhodnocení, zatímco pozitivní emoce k podhodnocení doby jejich trvání v případě vysoké intenzity emocí. V případě nízké intenzity emocí byl pozorován opačný efekt (Angrilli et al., 1997).

1.5. Distorze percepce času psychoaktivními látkami

1.5.1. Dopaminergní systém

Dopaminergní látky selektivně ovlivňují rychlost vnitřních hodin. Agonisté dopaminových receptorů, například amfetamin či kokain, způsobují zrychlení chodu vnitřních hodin, což

vede k podhodnocování prospektivních a nadhodnocování retrospektivních odhadů času. Opačný efekt – rebound fenomén je vidět při odeznívání jejich efektu. Naopak antagonisté dopaminových receptorů způsobují opačný efekt, jehož intenzita je přímo úměrná afinitě k D2 receptorům. Pro efekt dopaminu na rychlost chodu vnitřních hodin je typické, že při opakovaných aplikacích se efekt snižuje. Příčinou je zřejmě kalibrace subjektivního času měřeného vnitřními hodinami s fyzikálním časem (Rammsayer, 1993). Antagonista dopaminových receptorů Haloperidol způsobuje snížení diskriminačního prahu pro subsekundové i supra-sekundové intervaly (Rammsayer, 1989). Dopaminergní látky ovlivňují kromě rychlosti chodu vnitřních hodin i zaměřenou pozornost (Buhusi and Meck, 2002), což potvrzuje, jak obtížné je od sebe oddělit tyto komponenty vnímání.

1.5.2. Cholinergní systém

Cholinergní látky způsobují distorzi délky zapamatovaného intervalu v paměti. Antagonisté muskarinových receptorů způsobují prodloužení zapamatovaného intervalu a prospektivní odhady po jejich aplikaci jsou tedy nadhodnocené. Při opakovaném podání antagonisty muskarinových receptorů se navíc subjektivní distorze intervalu zvětšuje. Při retrospektivním odhadu se naopak zdá uběhnutý interval kratší. Deficit v cholinergním systému by tedy mohl být jednou z příčin subjektivně pocíťovaného zrychlení plynutí času s přibývajícím věkem (Meck, 1996).

1.5.3. Halucinogeny

Psilocybin, který je agonistou serotoninových (5-HT)_{2A/1A} receptorů, způsobuje subjektivní distorzi percepce času. Úvodní experimenty zdůrazňovaly kontrakci času po požití psilocybinu, tedy pocit, že minuty trvají hodiny a někdy dokonce, že se čas úplně zastavil (Fischer and Mead, 1966). Naproti tomu, psilocybin vedl k podhodnocení trvání supra-sekundových intervalů při úloze reprodukce časových intervalů (Wackermann et al., 2008). V experimentu se zdravými dobrovolníky psilocybin způsobil zpomalení preferovaného spontánního tempa, selektivní zhoršení odhadů intervalů delších než 3 sekundy a zhoršení výkonu v úloze udržování motorického tempa synchronizovaného s metronomem s periodou delší než 2 sekundy. Poruchy přesnosti odhadování času byly doprovázeny snížením kapacity pracovní paměti a zvýšeným pocitem depersonalizace a derealizace (Wittmann et al., 2007). Selektivní ovlivnění delších intervalů svědčí pro to, že mechanismus ovlivnění percepce času psilocybinem je pravděpodobně způsoben ovlivněním kapacity pracovní paměti a nikoliv

změnou rychlosti chodu vnitřních hodin. Subjektivní pocit distorze času koreloval s mírou zmenšení kapacity pracovní paměti (Wittmann et al., 2007). Selektivní efekt halucinogenů na supra-sekundové intervaly podpořila i studie s LSD-25 a mescalinem, která neprokázala ovlivnění diskriminace intervalů 300-1000 ms těmito látkami (Mitrani et al., 1977).

Delta-(9)-tetra-hydro-cannabinol (THC), aktivní látka marihuany, také způsobuje subjektivní distorzi vnímání času, která koreluje s mírou vyvolané depersonalizace (Mathew et al., 1993; Melges et al., 1970). Dle některých autorů plyne subjektivní čas po podání THC pomalejším tempem (Pattij et al., 2008; Tinklenberg et al., 1972), což se ale nepotvrdilo v dalších experimentech. Podání marihuany vedlo k pravostrannému posunu při úloze temporální bisekce s použitím 2 a 4 sekundového intervalu. Účastníci pokusu po podání THC s větší pravděpodobností označili interval jako dlouhý, což je v souladu se subjektivním pocitem zrychleného plynutí času (Lievig et al., 2006). Podobný pokus na potkanech ale vedl pouze k zvýšení variability odhadů, svědčící pro větší šum v mechanismech zaměřené pozornosti či pracovní paměti (Crystal et al., 2003). Kouření marihuany způsobilo zrychlení preferovaného motorického tempa stanoveného pomocí vytūkávání prstem, což bylo doprovázeno zvýšením metabolismu v mozečku a ventrální prefrontální kůře během vyšetření pozitronovou emisní tomografií (PET). Zrychlení frekvence motorického tempa navíc korelovalo se zvýšením metabolismu mozečku, což bylo interpretováno jako zrychlení vnitřních hodin lokalizovaných v mozečku (O'Leary et al., 2003).

1.6. Distorze času u neuropsychiatrických onemocnění

1.6.1. Parkinsonova nemoc

Porucha percepce času v oblasti sub- i supra-sekundových intervalů byla zaznamenána i u pacientů s Parkinsonovou nemocí (PN), zejména při vysazení dopaminergní medikace. Po podání levodopa se percepce času relativně normalizuje, stejně tak po zapnutí stimulátorů při hluboké mozkové stimulaci (Artieda et al., 1992; Koch et al., 2004a; Pastor et al., 1992). Pacienti s PN vykazují zhoršenou diskriminaci intervalů v oblasti milisekund v porovnání se zdravými subjekty (Artieda et al., 1992; Pastor et al., 1992). Většina provedených studií prokázala u PN zvýšení variability odhadů časových intervalů v řádu stovek milisekund při motorických úlohách udržování tempa i senzorických úlohách diskriminace časových intervalů (Artieda et al., 1992; Harrington et al., 1998a; O'Boyle et al., 1996; Rammsayer and Classen, 1997). Další studie však deficit v odhadech času v řádu milisekund neprokázaly (Koch et al., 2008; Spencer and Ivry, 2005) nebo jej prokázaly pouze u podskupiny pacientů

(Merchant et al., 2008), což podporuje klinickou zkušenost, že PN je heterogenní onemocnění. Patofyziologický podklad poruchy percepce milisekundových intervalů u pacientů s PN je nejasný. Předpokládané zpomalení chodu vnitřních hodin zřejmě není jejich příčinou, neboť při vytūkávání rytmu mají tendenci zrychlovat. Pomocí fMRI byla zjištěna snížená aktivita v SMA, SM1 a striatu během úlohy produkce tempa po vysazení medikace (Elsinger et al., 2003).

U pacientů s PN se vyskytují poruchy odhadů supra-sekundových intervalů, které jsou v souladu s hypotézou, že jejich vnitřní hodiny jdou pomaleji v důsledku insuficience dopaminergního systému. Studie se supra-sekundovými intervaly prokázala nadhodnocení intervalů v rozmezí 6-27 sekund, pokud bylo subjektům povoleno si při reprodukci počítat (Pastor et al., 1992), další studie však tyto výsledky nereplikovala (Perbal et al., 2005). Produkce intervalů v rozmezí 30-120 sekund byla postižená i při nasazené dopaminergní terapii (Jones et al., 2008). Specifickou poruchou, která však není vysvětlitelná změnou rychlosti chodu „vnitřních hodin“ je tzv. migrační efekt, který vzniká při paralelní reprodukci dvou intervalů a spočívá v podhodnocení delšího a nadhodnocení kratšího intervalu (Koch et al., 2004a; Koch et al., 2005; Koch et al., 2004b; Malapani et al., 1998b). Příčinou této poruchy je zřejmě dysfunkční vybavení informace o délce intervalu z paměti, kde dochází k vzájemnému zprůměrnění uložených intervalů (Malapani et al., 2002).

Zajímavý je fakt, že přesnost reprodukce časových intervalů u pacientů s Parkinsonovou nemocí se zlepšuje i po vysokofrekvenční rTMS pravostranné DLPFC (Koch et al., 2004b), což může být důsledkem uvolnění dopaminu ve striatu, které tato stimulace vyvolává (Strafella et al., 2001). Mechanismus účinku dopaminergních přípravků nemusí být jen působení na nigrostriální, ale i na mesokortikální dopaminový systém, který ovlivněním pracovní paměti může mít roli zejména v percepci supra-sekundových intervalů (Rammsayer and Classen, 1997).

1.6.2. Huntingtonova nemoc

Huntingtonova nemoc (HN) je degenerativní onemocnění, které postihuje nejprve středně trnité (medium-spiny) striální interneurony. Když se nosiči mutace pro HN přibližují věku předpokládaného počátku klinických příznaků, jejich přesnost odhadů času klesá. fMRI zobrazuje zvýšenou aktivitu v striatu, thalamu a SMA u pacientů s předpokládaným počátkem příznaků za více než 12 let. Zvýšená aktivita zřejmě kompenzuje úbytek neuronů a umožňuje

normální výkon v úlohách zaměřených na odhad času. U pacientů, kteří se přibližují předpokládanému vzniku příznaků HN, se fMRI aktivita v těchto oblastech snižuje a zhoršuje se i výkon v odhadech času (Hinton et al., 2007).

1.6.3. Schizofrenie

Pacienti se schizofrenií mají nižší citlivost pro diskriminaci sub- i supra-sekundových časových intervalů (Davalos et al., 2002; Davalos et al., 2003; Elvevag et al., 2003; Volz et al., 2001). Dále mají vyšší práh pro určení časového pořadí stimulů (Braus, 2002; Tenckhoff et al., 2002) i větší problémy se zapamatováním časové posloupnosti událostí (Elvevag et al., 2000). Studie, která porovnávala odhady času a kognitivní funkce u pacientů se schizofrenií zjistila korelaci poruchy kapacity pozornosti s diskriminací sub-sekundových intervalů a poruchy dlouhodobé paměti s diskriminací supra-sekundových intervalů. Porucha pracovní paměti korelovala s odhady intervalů bez závislosti na jejich trvání (Lee et al., 2009). Porucha percepce času je tedy zřejmě součástí rozsáhlejšího kognitivního deficitu u schizofrenie. Dle fMRI studie se u pacientů se schizofrenií méně aktivovaly SMA, striatum a operculární kortex při úloze diskriminace sluchově prezentovaných časových intervalů nezávisle na obtížnosti úlohy (Davalos et al., 2011). Jiná fMRI studie zkoumající mozkovou aktivaci při úloze diskriminace časových intervalů, která byla pro pacienty zjednodušena, aby podávali stejný výkon jako normy, zjistila rovněž sníženou aktivaci striata, SMA a PFC (Volz et al., 2001). Tyto výsledky svědčí pro primární dysfunkci fronto-striato-thalamo-kortikálních okruhů u schizofrenie.

1.6.4. Porucha pozornosti s hyperaktivitou

Role zaměřené pozornosti v percepci času je podpořena poruchou odhadu časových intervalů u pacientů s poruchou pozornosti s hyperaktivitou (attention deficit and hyperactivity disorder – ADHD). Pacienti s ADHD podhodnocují délku supra-sekundových intervalů v úloze reprodukce časových intervalů (Barkley et al., 2001; Plummer and Humphrey, 2009) a mají vyšší diskriminační práh pro sub-sekundové časové intervaly (Meaux and Chelonis, 2003; Smith et al., 2002). Vyšší diskriminační práh pro časové intervaly navíc koreluje s deficitem pracovní paměti (Toplak and Tannock, 2005; Yang et al., 2007) a byl doprovázen sníženou aktivitou pravostranného DLPFC, frontálního opercula a předního cingula dle fMRI studie (Smith et al., 2008). Tato patologická aktivace byla potvrzena i v další studii, která navíc prokázala její normalizaci po podání methylphenidatu (Rubia et al., 2009). Porucha

diskriminační prahu u 50 ms intervalu byla pozorována i u zdravých sourozenců pacientů s ADHD, zatímco diskriminační práh pro 1000ms interval byl zvýšen pouze u pacientů s manifestní ADHD (Himpel et al., 2009). Tyto výsledky svědčí pro to, že porucha neuronálních sítí souvisejících s diskriminací velmi krátkých intervalů je známkou predispozice pro ADHD.

1.6.5. Depersonalizace a derealizace

Subjektivní poruchy vnímání plynutí a orientace v čase jsou častou stížností pacientů se syndromem depersonalizace/derealizace (Simeon et al., 2007). Jejich objektivní testování na produkce, reprodukce a verbální odhady časových intervalů však nebyly rozdílné od zdravých osob (Cappon and Banks, 1969), což potvrzuje, že subjektivní pocit abnormního plynutí času a objektivní měření přesnosti odhadů času spolu nemusí souviset. Stupeň depersonalizace koreluje s pocitem dezintegrace časového vnímání i u jiných psychiatrických onemocnění (Freeman and Melges, 1977) a po požití psychoaktivních látek (Melges et al., 1970). Dezintegrace časového vnímání je popisována i u disociativních stavů doprovázejících akutní i chronickou posttraumatickou stresovou poruchu způsobenou autonehodou (Ursano et al., 1999). Subjektivní poruchy percepce času u pacientů s disociativními projevy překvapivě nejvíce korelovaly s disociativní kategorií absorpce, která souvisí s imaginativním zaujetím vedoucím až k setření hranice mezi fantazií a realitou (Simeon et al., 2007). Ukotvení subjektu ve fantazijním světě je doprovázeno poruchami pozornosti a může hypoteticky způsobit chybnou kalibraci vnitřních hodin s objektivním fyzikálním časem.

1.7. Neuroanatomické podklady percepce času

Naše znalosti o oblastech mozku důležitých pro percepci času vycházejí zejména z několika typů studií: funkčně-zobrazovacích, rTMS a lezionálních (tab. 2).

Tab. 2: Oblasti mozku důležité pro percepci času.

	Supra-sekundové			Sub-sekundové intervaly		
	fMRI/PET	rTMS	léze	fMRI/PET	rTMS	léze
Explicitní odhady času						
(pre)-SMA	+	-	+	+		
P frontální operculum	+			+		
Striatum	+		+	+		+
Cerebellum				+	+	+
P DLPFC	+	+	+			
P PPC	+	+	+			
Implicitní měření času						
L dolní parietální kortex	+			+		
L ventrální premotorický kortex	+			+	+	
Cerebellum				+		

1.7.1. Mozeček

Mozeček je spojován zejména s měřením intervalů v řádu stovek milisekund a přesným načasováním motorické odpovědi (Ivry and Spencer, 2004). Dysdiadochokineza je některými autory považována za abnormální koordinaci svalových skupin v čase (Koch et al., 2009). Neocerebelární léze způsobí zhoršení přesnosti a zvýšení variability odhadů délky akustického stimulu, aniž by byla poškozena schopnost odhadnout jeho výšku. Mozeček tedy hraje roli nejen v časování motorické odpovědi, ale i v percepční oblasti (Keele and Ivry, 1990; Mangels et al., 1998). Správné načasování podmíněného mrkacího reflexu v návaznosti na podmiňující stimulus je porušeno při lézích mozečku. Aby byl podmíněný reflex adaptivní, musí přesně odrážet časový vztah mezi neutrálním (písknutí) a averzivním (fouknutí na rohovku) stimulem. U pacientů s cerebelárními lézemi je poškozeno podmiňování mrkacího reflexu (Daum et al., 1993; Topka et al., 1993). Lezionální studie u králíků potvrdily, že právě poškození cerebella znehodnotí adaptivní časování podmíněného reflexu, aniž by jej zrušilo (Thompson, 1990). Při učení se načasování mrkacího reflexu byla zaznamenaná aktivita

Purkyňových buněk (Kotani et al., 2003). Geneticky upravená zvířata, neschopna dlouhotrvajícího útlumu (long term depression - LTD) na synapsích spojujících paralelní vlákna a Purkyňovy buňky, mají porušené načasování podmíněného reflexu (Koekkoek et al., 2003). Inhibiční aktivita Purkyňových buněk je tedy zřejmě nezbytná pro adaptivní zpoždění a tedy správné načasování podmíněné reakce (Svensson et al., 2010). Cerebellum je důležité i pro výkon v úlohách zaměřených na implicitní percepci času, při kterých má pokusný subjekt za úkol odhadnout trajektorii pohybujícího se předmětu. Posteriošní cerebellum se aktivovalo při provádění této úlohy během fMRI (O'Reilly et al., 2008) a výkon pacientů s cerebelárním syndromem v této úloze je horší v porovnání se zdravými normami (Bares et al., 2007). Zobrazovací studie lokalizují aktivitu během úloh zaměřených na načasování pohybu do posteriošního cerebella, které má silné spoje s DLPFC (Jueptner et al., 1995; Schubotz et al., 2000; Smith et al., 2003).

Pacienti s lézemi mozečku mají zvýšenou variabilitu prospektivních odhadů času, patrnou zejména při repetitivních úlohách, jako je produkce motorického tempa vytukáváním. Variabilita odhadů narůstá úměrně délce odhadovaného intervalu a neporušuje Weberův zákon (Ivry and Spencer, 2004). Experimenty s potkany zahrnující intervaly sub- a supra-sekundové ukázaly roli cerebella pouze v odhadech intervalů do 1s. Bylo tedy postulováno, že role mozečku je v odměřování sub-sekundových intervalů, které je automatické (implicitní) a nevyžaduje kognitivní kontrolu. Zdá se, že léze mozečku nemění rychlost chodu vnitřních hodin, ale zvyšují variabilitu odhadů, tedy způsobují jakousi časovou dysmetrii (Buetti et al., 2008c). Studie s rTMS prokázaly ovlivnění odhadů intervalů v rozsahu stovek milisekund, ale nikoliv supra-sekundových intervalů (Del Olmo et al., 2007; Koch et al., 2009; Koch et al., 2007; Lee et al., 2007).

Další studie ovšem dokazují i roli mozečku v odhadech supra-sekundových intervalů. Studie s pacienty s mozečkovými lézemi prokázala zhoršení přesnosti odhadů intervalů až do 20 s. Nepotvrdila se teorie, že tento deficit je způsoben poruchou pozornosti, pracovní paměti nebo exekutivních funkcí, která by byla způsobena lézí fronto-cerebelárních drah (Malapani et al., 1998a). Porovnání vnímání času u pacientů s lézemi mozečku a PFC ukázalo, že zatímco frontální léze způsobí deficit ve vnímání časových intervalů supra-sekundových (4 s), cerebelární léze způsobila deficit v intervalech sub i supra-sekundových (400 ms, 4 s). Výsledky byly autory interpretovány tak, že mozeček je místem vnitřních hodin a PFC odpovídá za nastavbové funkce jako je pozornost a pracovní paměť, kterých není při kratších

intervalech potřeba, proto se jeho léze neprojeví v sub-sekundových intervalech (Mangels et al., 1998). Autoři zobrazovací studie, která zkoumala vnímání času pod vlivem marihuany, zjistili, že zrychlený chod vnitřních hodin po aplikaci THC koreluje se zvýšením průtoku krve mozečkem měřeným PET. Tento náález interpretovali tak, že marihuana zrychluje hodiny uložené v mozečku (O'Leary et al., 2003).

1.7.2. Bazální ganglia

Předpokládá se, že bazální ganglia jsou klíčovou strukturou při odhadech supra-sekundových intervalů (Meck and Benson, 2002). U potkanů se zavedenými elektrodami ve striatu byla zjištěna aktivita určité populace neuronů při stisku tlačítka po uběhnutí naučeného časového intervalu, ale nikoliv při stisku tlačítka po uběhnutí jiného intervalu nebo při náhodném stisku stejného tlačítka (Matell et al., 2003). Potkani s lézí striata se také nejsou schopni správně naučit stisknout tlačítko po uplynutí určitého časového intervalu. Úlohu striata podporuje i distorze percepce času způsobená látkami ovlivňujícími dopaminergní transmisí (Meck, 1996; Meck and Benson, 2002; Rakitin et al., 2006; Rammsayer, 1993). Pro vnímání času je kritický zejména nigrostriální systém, při lézi SN i striata dojde ke zhoršení odhadů času u pokusných zvířat. Zatímco léze SN je reverzibilní a po podání dopaminu se schopnost odhadovat čas vrací k normě, léze striata reverzibilní není (Meck, 1998).

Caudatum i putamen se aktivují během fáze prezentace i reprodukce sub i supra-sekundových časových intervalů (Harrington et al., 2004; Hinton and Meck, 2004; Jahanshahi et al., 2006; Jones and Jahanshahi, 2009; Jueptner et al., 1995; Livesey et al., 2007; Nenadic et al., 2003; Rao et al., 2001). Striatum je aktivováno ve fázi pokračování produkce v úloze udržování motorického tempa (Bengtsson et al., 2005). Striatum je klíčovou strukturou v fronto-striálních okruzích a hypoteticky registruje spuštění měření časového intervalu vycházející z SN, které synchronizuje fronto-striální oscilátory.

1.7.3. Suplementární motorická oblast

SMA je oblast, která se dle funkčně-zobrazovacích metod včetně voxel-wise meta analýzy konzistentně aktivuje při odhadech času nezávisle na motorické odpovědi, délce intervalu, senzorické modalitě či typu časové úlohy (Wiener et al., 2010). SMA spolu s premotorickým kortexem, frontálním operculem a putamen vykazovala lineární vzestup aktivity, v korelaci s tím, kolik pokusné subjekty věnovaly pozornosti časovému aspektu úlohy (Coull et al., 2004). Studie s evokovanými potenciály zaznamenala nad SMA pomalé změny potenciálu

nazývané kontingentní negativní variace (contingent negative variation – CNV) při odhadech supra-sekundových časových intervalů, které by mohly odpovídat časovému akumulátoru (Macar et al., 1999). Role SMA je umocněna jejím zapojením do okruhu bazálních ganglií, jehož úloha v percepci času je dobře podložena (Hinton and Meck, 2004; Lustig et al., 2005; Matell and Meck, 2004; Matell et al., 2003; Meck and Benson, 2002; Meck et al., 2008). Úloha SMA při odhadech časových však nikdy nebyla potvrzena pomocí TMS (Del Olmo et al., 2007; Jones et al., 2004).

1.7.4. Dorsolaterální prefrontální kortex

DLPFC se konzistentně aktivuje v úlohách vyžadujících odhady časových intervalů ve funkčních zobrazovacích metodách (Lewis and Miall, 2003; Rubia and Smith, 2004; Smith et al., 2003). Repetitivní TMS oblasti DLPFC ovlivnila reprodukci supra-sekundových časových intervalů, tedy v pásmu, které vyžaduje zapojení kognitivní kontroly (Del Olmo et al., 2007; Jones et al., 2004; Koch et al., 2003; Koch et al., 2007). Jelikož jde o multifunkční strukturu, výklad její úlohy v percepci času není jednoznačný, může odpovídat zaměřené pozornosti, pracovní paměti nebo rozhodovacím procesům. Zachovalá funkce DLPFC a nucleus basalis magnocellularis je nutná, pokud má mozek odměřovat zároveň dva časové intervaly o různém trvání, nikoliv pokud má časové intervaly odměřovat následně po sobě (Meck et al., 1987). Toto svědčí pro úlohu DLPFC v dynamické alokaci zaměřené pozornosti v čase (Coull and Nobre, 1998).

Aktivita neuronů DLPFC u primátů se objevila při jednotkové registraci neuronální aktivity mikroelektrodou během pauzy v úloze, která vyžadovala odpověď se zpožděním (delayed response task). Frekvence pálení těchto neuronů navíc rostla s délkou intervalu a skončila ihned při zahájení odpovědi (Niki and Watanabe, 1979). K podobným výsledkům došly i studie u lidí, u kterých evokované potenciály zaznamenaly pomalé změny potenciálu CNV nad PFC při odhadu časových intervalů. CNV korelovala s délkou odhadovaného intervalu (Macar and Vidal, 2009; Pouthas et al., 2000). Tato aktivita by mohla odrážet funkci DLPFC jako akumulátoru a jeho roli v načasování odpovědi (Constantinidis et al., 2002). Další možnou interpretací je ovšem, že tato aktivace je vztažena k udržení informace online v pracovní paměti a překlenuje tak mezeru mezi senzorickým vstupem a odpovědí. Tyto interpretace se nevylučují a je možné, že DLPFC je oblast potřebná pro podržení informace v pracovní paměti a spuštění odpovědi ve správný čas (Monfort and Pouthas, 2003; Pfeuty et al., 2003).

Výsledky lezionální studie také svědčí pro existenci pravostranné fronto-parietální sítě v percepci času. Při porovnání pacientů s fokálními lézemi v kůře pravé a levé hemisféry se ukázalo, že pouze pacienti s lézí v pravé hemisféře měli poškozené vnímání času. U pacientů s poruchou vnímání času byl při předních lézích poškozen prefrontální a premotorický kortex (BA 6, 8, 9, 46) a při zadních lézích byl poškozen zadní parietální kortex. Pacienti s lézemi stejných oblastí v levé hemisféře vnímání času postiženo neměli (Harrington et al., 1998b). Dle jiné teorie existují rozdíly mezi mozkovými oblastmi pro explicitní, vědomé odhady času a implicitním využitím časové pravidelnosti objevení se určitého stimulu v prostředí. Zatímco pro explicitní odhady je využívána fronto-parietální síť pravostranné hemisféry (Kagerer et al., 2002), pro implicitní odhady je důležitý levostranný dolní parietální a ventrální premotorický kortex spolu s cerebellem (Assmus et al., 2005; Coull and Nobre, 2008; Dreher et al., 2002; Field and Wann, 2005; Geiser et al., 2008; Pollok et al., 2008a; Pollok et al., 2008b; Sakai et al., 2000; Schubotz, 2007).

1.7.5. Posteriošní parietální kortex

Pravostranný PPC je součástí výše uvedené fronto-parietální sítě a předpokládá se jeho úloha v převádění informací o trvání senzorického podnětu do správně načasované motorické akce. Úlohu pravostranné PPC podporují i výsledky rTMS studií (Bueti et al., 2008a; Oliveri et al., 2009). Pacienti s lézí pravostranného parietálního kortexu doprovázené neglect syndromem podhodnocují délku intervalu vizuálně prezentovaného v levostranném zrakovém poli (Danckert et al., 2007). Elektrofyziologické studie zkoumající jednotkovou neuronální aktivitu v PPC u opic ukázaly, že aktivita neuronů koreluje s odhadem doby objevení se podnětu, který se objevuje náhodně v určitém časovém intervalu (Janssen and Shadlen, 2005).

Neurony PPC jsou aktivovány při úlohách vyžadujících měření času, ale i při úlohách vyžadujících provedení sekvence pohybů několikrát za sebou (Sawamura et al., 2002). Úloha PPC je tedy zřejmě obecnější, dle některých autorů je součástí okruhu zpracovávající několik souvisejících vlastností stimulu: počet, pořadí a velikost. Odhady času jsou zkreslené, pokud jsou pokusnému subjektu během odhadu časového intervalu zároveň prezentována čísla, což svědčí pro interferenci těchto vjemů (Oliveri et al., 2008). PPC by tak mohl být součástí supramodálního okruhu pro velikost či význam podnětu (Walsh, 2003).

1.7.6. Insulární kortex a frontální operculum

Pravostranné frontální operculum a přilehlý insulární kortex je spolu s SMA oblastí, která se dle voxel-wise meta analýzy aktivuje při odhadech času nezávisle na délce intervalu, senzorické modalitě či typu časové úlohy (Wiener et al., 2010). Operculární oblast je aktivována specificky při odhadech času i v porovnání s kontrolní úlohou, která je kognitivně náročnější (Livesey et al., 2007). Přední insulární kortex přijímá informace z vegetativních interoceptorů a monitoruje homeostázu vnitřního prostředí. Bylo navrženo, že frekvence vzruchů z interoceptorů a změny vnitřního prostředí v čase se podílejí na vytváření našeho subjektivního pocitu plynutí času i jeho ovlivnění emocemi (Craig, 2009).

1.8. Shrnutí a východisko pro naše studie

Z výše uvedeného je patrné, že existence jedné specializované oblasti mozku s funkcí „vnitřních hodin“ je velmi nepravděpodobná. Na percepci času se podílí neurokognitivní síť složená z řady oblastí mozku, které se flexibilně zapojují dle specifických požadavků úlohy. Mezi faktory, které rozhodují o zapojení konkrétní mozkové oblasti do řešení úlohy je zřejmě nejdůležitější délka odhadovaného intervalu, přičemž percepce supra-sekundových intervalů je kromě správné funkce „vnitřních hodin“ závislá na funkci pozornosti a paměti. Z modelů percepce času v supra-sekundovém rozmezí mají největší empirický podklad modely založené na funkci akumulátoru. Neurofyziologickými metodami během úloh vyžadujících měření času byla u primátů zachycena graduálně rostoucí či klesající aktivita neuronů při jejich jednotkové registraci a u lidí nárůst negativity CNV nad skalpem při vyšetření evokovaných potenciálů.

Ačkoliv má fMRI mnohem větší prostorovou rozlišovací schopnost, zatím nebyla použita k lokalizaci mozkové oblasti či oblastí s vlastnostmi časového akumulátoru. SMA je oblast, která se velmi konzistentně aktivuje v zobrazovacích studiích a je jedním z možných generátorů CNV. Její role v percepci času však zatím nebyla potvrzena pomocí rTMS, obě studie využívající tuto metodiku na SMA byly negativní. Zajímavou možností, jak poznat mechanismy fungování „vnitřních hodin“ je výzkum pacientů s neuropsychiatrickými nemocemi, které vedou k poruše odhadů času. PN se nabízí jako modelové postižení, neboť porucha odhadů trvání supra-sekundových intervalů byla popsána v řadě studií a navíc se tato porucha významně zlepšuje po podání dopaminergní medikace. Porovnání mozkové aktivity během úlohy zaměřené na odhady času u pacientů s PN by mohlo vést k lepšímu poznání mozkových oblastí zodpovědných za percepci času.

2. Cíle a hypotézy práce

- A. Pomocí fMRI u zdravých dobrovolníků popsat oblasti mozku, které se podílejí na percepci času a nalézt „akumulátory času“, tzn. takové části mozku, do kterých se ukládají informace o délce časových intervalů

***Hypotéza I:** V mozku jsou oblasti, jejichž aktivita lineárně roste nebo klesá během odhadu času a tyto oblasti se chovají jinak ve fázi zapamatování a reprodukce časového intervalu.*

- B. Ovlivnit kognitivní výkon v úloze reprodukce časových intervalů pomocí rTMS zaměřené na oblasti SMA a precuneu.

***Hypotéza II:** Po stimulaci SMA dojde k zlepšení přesnosti a snížení rozptylu odhadů času v úloze reprodukce časových intervalů, zatímco po stimulaci precuneu výkon zlepšen nebude.*

- C. Pomocí fMRI zjistit neurofyzilogický podklad poruchy percepce času u pacientů s Parkinsonovou nemocí ve stavu bez dopaminergní medikace (OFF) v porovnání se stavem na medikaci (ON).

***Hypotéza III:** Pacienti v OFF stavu budou vykazovat nepřesné odhady času ve smyslu migračního efektu, tj. nadhodnocovat krátké a podhodnocovat dlouhé intervaly. V OFF stavu v porovnání s ON stavem dojde během provádění úlohy reprodukce časových intervalů k rozdílné mozkové aktivaci v asociačních kortikálních a subkortikálních oblastech.*

3. Použitá metodika

Při lokalizaci tzv. „vnitřních hodin“ lidského mozku se nejčastěji používají funkční zobrazovací metody. Mezi ně patří PET, v poslední době však hlavně fMRI, které zobrazí oblasti mozku aktivované při provádění úlohy zaměřené na měření času. Během provádění těchto úloh je možno rovněž snímat elektroencefalografický záznam (EEG) a následně rekonstruovat evokované potenciály (EP), které mají lepší časové rozlišení než PET nebo fMRI. Další možností hledání oblastí mozku odpovědných za vnímání času je testování přesnosti časových odhadů u osob s fokálními mozkovými lézemi, například po cévní mozkové příhodě nebo po neurochirurgické operaci. Zhoršená přesnost vnímání času u osob s lézí v určité oblasti je silnějším důkazem nepostradatelnosti dané oblasti pro vnímání času než aktivace ve funkčním zobrazování. Tranzitorní „léze“ různých mozkových oblastí je v poslední době možno provádět i uměle pomocí rTMS.

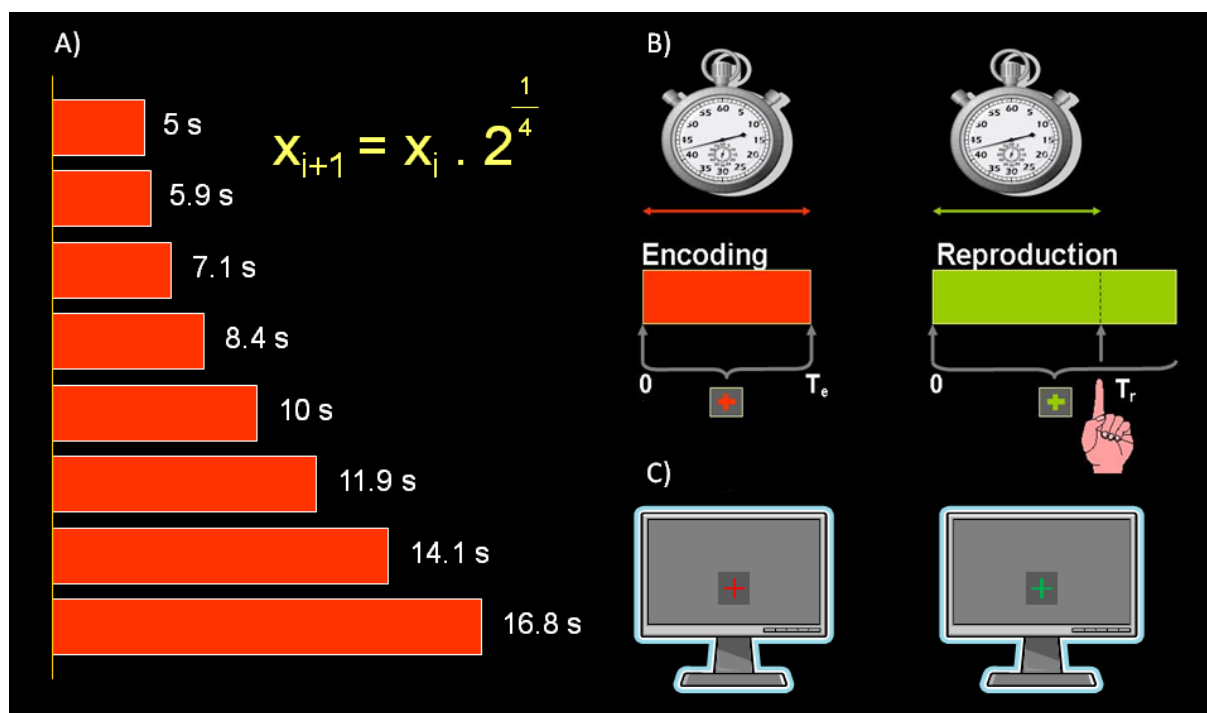
3.1. Úloha reprodukce časových intervalů (TRT)

Úloha se skládá ze dvou fází – fáze učení (prezentace) a fáze reprodukce časového intervalu (obr. 2). Ve fázi prezentace je prezentován vizuální podnět (v našem případě tmavě šedý čtverec s červeným křížkem uprostřed) po přesně definovaný interval. Časové intervaly byly pro naše studie vybrány z 8 intervalů v trvání: 5.00; 5.95; 7.07; 8.41; 10.00; 11.89; 14.14 a 16.82 s. Tyto intervaly tvoří geometrickou řadu dle vzorce $x_{i+1} = x_i \cdot 2^{1/4}$ (Obr. 3), přičemž během úlohy je každý interval použit několikrát v pseudonáhodném pořadí s cílem získat reprezentativní odhad každého intervalu a zabránit učení. Subjekt si během fáze prezentace interval zapamatuje a v následující fázi reprodukce jeho trvání reprodukuje stiskem tlačítka ukazovákem pravé ruky. Mezi fázemi prezentace a reprodukce je vždy po určitou dobu zobrazen indiferentní podnět (šedý křížek). Fáze reprodukce začíná zobrazením šedého čtverce se zeleným křížkem a končí stiskem tlačítka. Po něm následuje opět indiferentní podnět. Každý subjekt je instruován, aby po celou dobu úlohy očima fixoval křížek a aby během úlohy nepoužíval strategii mentálního počítání.

Úloha TRT byla vybrána pro naše účely, neboť umožňuje jednoduchou prezentaci intervalu požadované délky a nepotřebuje převod délky časového intervalu z verbálního sdělení, jako například úloha produkce časových intervalů (kde by instrukce zněla „odhadněte 5.95 sekund“). V naší úloze geometricky narůstá pouze délka odhadovaného intervalu, zatímco

ostatní procesy, jako jsou vizuální percepce, rozhodování, příprava a realizace behaviorální odpovědi, zůstávají konstantní.

Obr. 3: Úloha reprodukce časových intervalů. A) vizuální znázornění délky použitých časových intervalů, které tvoří geometrickou řadu. B) znázornění časového průběhu úlohy, která začíná fází prezentace intervalu, následuje indiferentní stimulus a fáze reprodukce. C) vizuální stimulus, který byl zobrazen během fáze prezentace a reprodukce.



3.2. Funkční magnetická rezonance

Funkční magnetická rezonance je metoda, jejímž prostřednictvím je možno zachytit změnu mozkové aktivity v průběhu různých typů úloh (např. motorických, senzorických nebo kognitivních) a tak prokázat roli aktivované mozkové oblasti v řešení dané úlohy. Funkční zobrazování pomocí fMRI v drtivé většině využívá tzv. BOLD (blood oxygenation level dependent) kontrastu. Podstatou BOLD kontrastu je zachycení změn poměru oxy- a deoxyhemoglobinu, které můžeme detekovat díky jejich odlišným magnetickým vlastnostem. Oxyhemoglobin je podobně jako většina tkání v lidském těle diamagnetický, tedy nemá zvláštní magnetické vlastnosti, zatímco deoxyhemoglobin je díky čtyřem nepárovým elektronům železa paramagnetický. Svými magnetickými vlastnostmi tak mění lokální vlastnosti magnetického pole a vede ke vzniku lokální nehomogenity, což ve svém důsledku vede ke zkrácení tzv. T_2^* relaxačního času.

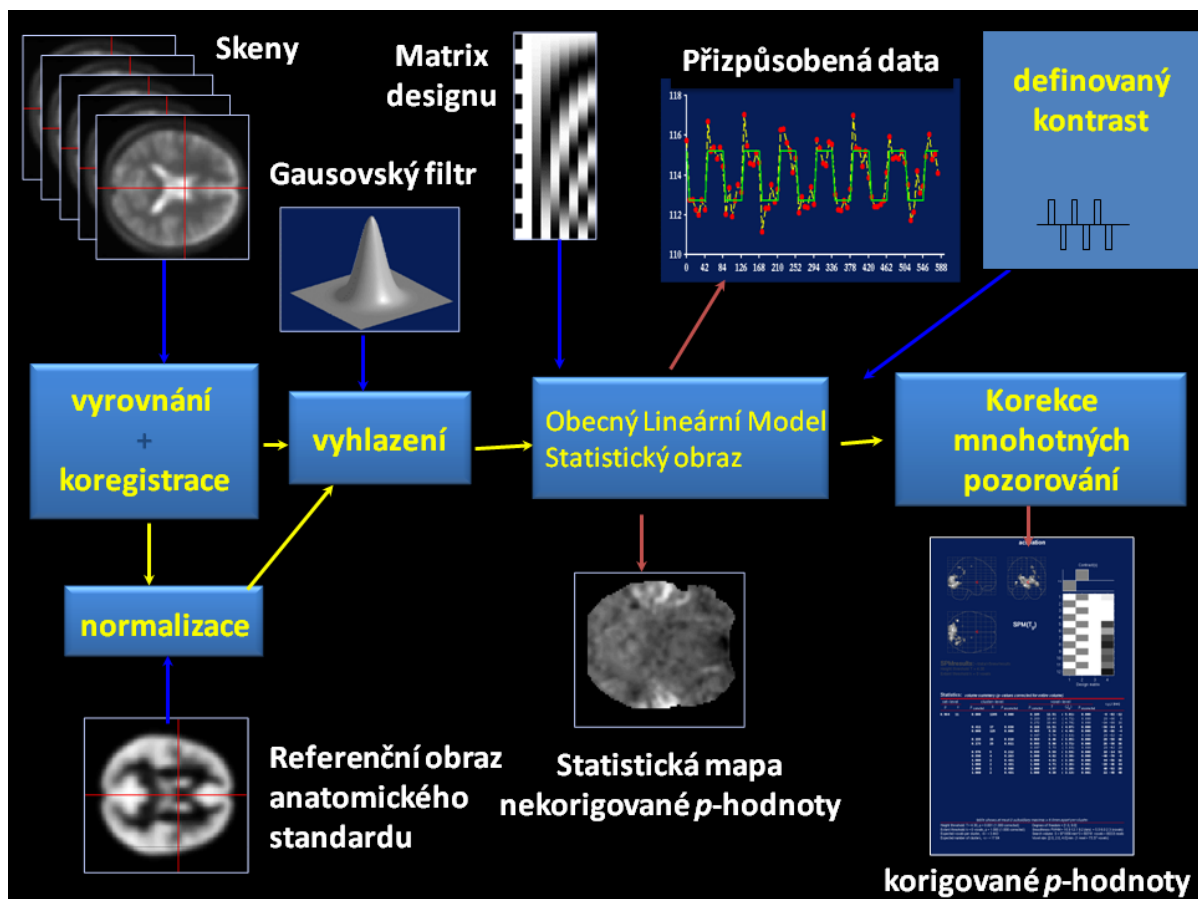
V části mozkové kůry, která je právě aktivována dochází ke zvýšení neuronální aktivity, tedy frekvence pálení neuronů, což vede ke zvýšení jejich metabolismu a zvýšené spotřebě kyslíku, který je nutné získat z oxyhemoglobinu. V iniciální fázi dochází k zvýšení extrakce kyslíku z oxyhemoglobinu a zvýšení koncentrace deoxyhemoglobinu v aktivované tkáni. V této chvíli dochází k zvýšení lokální nehomogenity magnetického pole a hypoteticky lze zachytit iniciální pokles BOLD signálu (tzv. initial dip), tuto fázi však běžné přístroje nezachytí. V další fázi se již uplatní zvýšený přítok krve do tkáně a dochází ke zvýšení obsahu oxyhemoglobinu a tedy lokálnímu snížení nehomogenity magnetického pole. Tento efekt vede ke zvýšení BOLD signálu, které považujeme za vlastní odpověď. Tato reakce vrcholí za několik (3-8) sekund od počátku a po ní následuje pokles signálu, přechodně až k negativním hodnotám (undershoot). Hemodynamická cévní odpověď a tedy BOLD signál jsou velmi citlivé ukazatele změny aktivity neuronů trvající i několik stovek milisekund.

Při designování a analýze úlohy pro fMRI existuje několik možností způsobu prezentace úlohy a zpracování dat. Při blokovém designu se střídá v pravidelných intervalech fáze klidu a fáze, kdy subjekt provádí opakovaně zadanou úlohu (například ťukání palcem a ukazovákem). Opakování úlohy je nutné, aby se vzhledem k malé procentuální změně signálu dalo statistickým zpracováním spolehlivě určit, v kterých oblastech došlo k aktivaci. Analýza se v tomto případě provádí prostou subtrakcí aktivity ve fázi úlohy a ve fázi klidu. Výhodou blokového designu je jeho jednoduché provedení a snadná analýza. Nevýhodou je malá flexibilita a nemožnost zachycení aktivity jednotlivé spontánní události. Event-related (k události vztažený) design je naopak určený k měření aktivity vyvolané jednotlivou, nepravidelně se opakující událostí. Pro analýzu je nezbytná synchronizace aktivity vyšetřovaného subjektu se signálem magnetické rezonance. Parametrický design využívá faktu, že silnější podnět vyvolá větší aktivaci dané oblasti, například kognitivní úloha na pracovní paměť může mít různé úrovně obtížnosti. Výhodou parametrického designu je, že měníme pouze jednu vlastnost dané úlohy, která nás zajímá, zatímco ostatní vlastnosti, které jsou mimo náš zájem, zůstávají konstantní (Amaro and Barker, 2006).

Velký objem dat získaných při fMRI klade velké nároky na jejich zpracování. Zpracování našich dat bylo provedeno pomocí programů SPM (Wellcome Department of Cognitive Neurology, London, United Kingdom) a Lipsia (Leipzig Image Processing and Statistical Inference Algorithms, Max Planck Institute for Human Cognitive and Brain Sciences, Leipzig, Germany). Získaná data je nezbytné před vlastní analýzou připravit, což spočívá

v korekci pohybových artefaktů, korekci časového zpoždění jednotlivých řezů, prostorové normalizaci do standardizovaného stereotaktického prostoru (Montreal Neurological Institute) a prostorovém vyhlazení isotropním gausovským filtrem (Friston et al., 1995; Friston et al., 1996). Statistické zpracování spočívá ve vytvoření teoretického modelu průběhu BOLD signálu pomocí očekávané funkce hemodynamické odpovědi (hemodynamic response function) dle designu konkrétní úlohy. Časový průběh signálu v každém voxelu (jednotkový objem mozkové tkáně) se pak porovnává s vytvořeným modelem a statisticky se ověřuje, zda průběh modelu odpovídá. Statistické zpracování probíhá obvykle pomocí obecného lineárního modelu, vzhledem k velkému počtu statistických analýz je nezbytné výsledky korigovat na mnohočetná porovnání (Obr. 4). fMRI experimenty se obvykle provádí na skupině subjektů a jejich individuální výsledky se dále zpracovávají pomocí skupinové analýzy.

Obr. 4: Postup při analýze fMRI dat (dle Poline, 2003, z přednášky ovládání SPM).



3.3. Transkraniální magnetická stimulace

Neuroanatomické studie se snaží lokalizovat oblasti mozku zapojené do určité úlohy pomocí funkčních zobrazovacích metod, mezi něž patří například PET nebo fMRI. Problémem funkčních zobrazovacích studií však zůstává nemožnost odlišení oblastí specifických pro studovaný aspekt úlohy od nežádoucí koaktivace, tedy oblastí aktivovaných v souvislosti s jinými neoddelitelnými aspekty řešení komplexní úlohy, jako je zpracování senzorické informace, zaměřená pozornost, pracovní paměť či rozhodovací procesy. Výsledky korelačních metod jako je fMRI je tedy vhodné potvrdit dalšími komplementárními metodami, které přímo ovlivňují činnost studované oblasti. Jednou z těchto metod je rTMS. Dle režimu stimulace je možno určitou mozkovou oblast dočasně vyřadit z činnosti (způsobit virtuální lézi) nebo naopak způsobit déletrvající změny funkce ve smyslu zvýšení excitability přesahující dobu stimulace. V některých provedených studiích se pomocí rTMS podařilo zlepšit výkon v kognitivních úlohách.

Jedná se o metodu, založenou na lokální depolarizaci/hyperpolarizaci mozkové tkáně pomocí série fokusovaných silných magnetických pulzů generovaných cívkou, které v přilehlé mozkové tkáni indukují vznik elektrického proudu a lokálně tak ovlivňují mozkovou činnost. Při náhlé změně intenzity magnetického pole generovaného cívkou dojde dle zákona elektromagnetické indukce intrakraniálně ke vzniku elektrického proudu, který má opačný směr než proud ve stimulační cívce a tento směr je převážně paralelní s rovinou stimulační cívkou. Proud prochází pouze po tu dobu, po kterou trvá změna magnetického pole a při dostatečné intenzitě vede k depolarizaci nervových vláken a ke vzniku akčního potenciálu. Magnetická stimulace je v porovnání s elektrickou stimulací výhodnější pro lepší prostup měkkými tkáněmi hlavy i lebky.

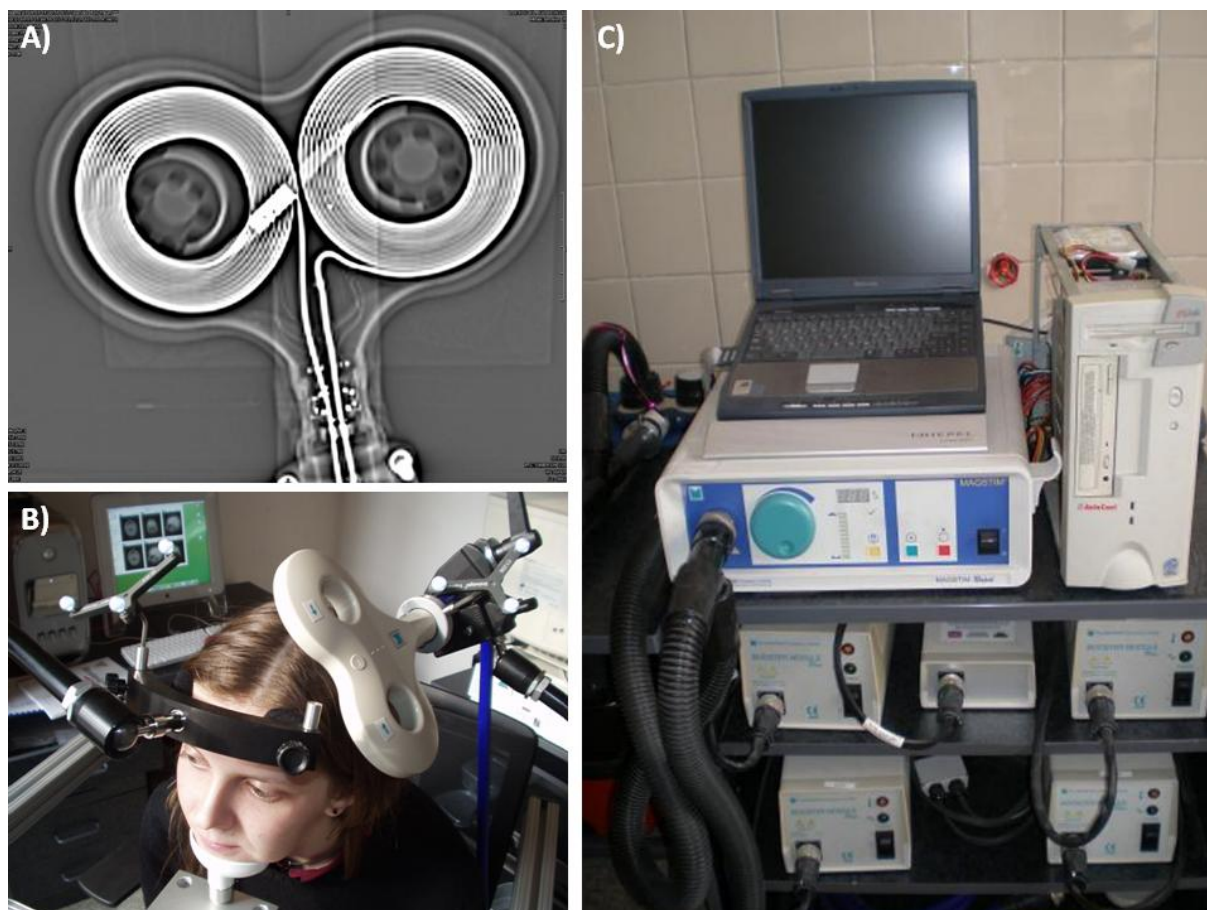
Základním vybavením pro rTMS je řídicí jednotka, osmičková cívka a počítač kontrolující vzorec stimulace (obr. 5a,c). Řídicí jednotka je tvořena magnetickým stimulátorem - silným zdrojem na bázi velkokapacitního kondenzátoru schopným generovat magnetické pulzy. Výboj kondenzátoru je v podstatě pulzem silného elektrického proudu, který v požadovaném okamžiku proteče stimulační cívkou. Při repetitivní stimulaci, kdy je nutné docílit velmi krátkých intervalů mezi jednotlivými pulzy, musí být stimulátor tvořen dvěma či čtyřmi paralelními kondenzátory. Kondenzátory pracují vůči sobě s definovaným časovým zpožděním, takže ve chvíli, kdy se jeden kondenzátor vybíjí, jsou další tři v různých fázích

nabíjení. Další součástí soupravy je osmičková stimulační cívka, která se skládá ze dvou vůči sobě opačně navinutých cívek tvořených závity elektricky izolovaného vodiče. Vyšší počet závitů zvyšuje intenzitu magnetického pole, ale způsobuje vyšší tendenci k přehřívání. Proto je při repetitivní stimulaci třeba používat cívky chlazené vzduchem či vodou. V místech osmičkové cívky, kde se cívky téměř dotýkají, teče proud stejným směrem a toto místo nazýváme „hot-spot“, neboť zde je intenzita elektrického pole nejsilnější. Tímto místem cívku přikládáme nad skalp (obr. 5a).

Základními technickými parametry stimulace, které kontroluje řídící počítač, jsou frekvence, eventuálně vzorec stimulace, intenzita jednotlivého stimulu a celkový počet pulzů. Frekvence je definována jako časová perioda mezi jednotlivými pravidelně se opakujícími pulzy. Podle rozdílného fyziologického účinku na nervovou tkáň rozlišujeme tzv. nízko- a vysokofrekvenční rTMS. Za nízkofrekvenční rTMS označujeme stimulaci o frekvence pulzů ≤ 1 Hz a stimulaci o frekvence >1 Hz označujeme jako vysokofrekvenční. Nízkofrekvenční stimulace snižuje kortikální excitabilitu a má tedy převážně inhibiční efekt na nervovou tkáň, zatímco vysokofrekvenční stimulace naopak zvyšuje kortikální excitabilitu a její efekt na nervovou tkáň je převážně excitační (Chen et al., 1997a; Wassermann et al., 1998). Existují i složitější vzorce stimulace, vycházející z fyziologických vlastností nervové tkáně, například theta-burst stimulace (TBS), při které se využívá série tří velmi rychlých pulzů o frekvenci 50Hz následovaných pauzou o délce 200 ms. Pokud je tento vzorec opakován kontinuálně do dosažení 600 pulzů, vyvolá až 60 minut trvající snížení excitability motorického kortexu. Intermitentní TBS, při které jsou 2 sekundy kontinuální TBS prokládány 8 sekundami klidu, má naopak na motorický kortex dlouhodobý excitační efekt (Huang et al., 2005). Dalším důležitým parametrem je intenzita stimulu, která se určuje v procentech maximálního výstupu stimulatoru. Požadovanou intenzitu stimulace zpravidla vztahujeme k motorickému prahu pacienta. Prahová stimulace je stimulace s hodnotou 100% motorického prahu, vyšší intenzitu označujeme jako nadprahovou, nižší jako podprahovou. Motorický (kortikální) klidový práh je intenzita stimulu, který vyvolá v relaxovaném svalu reprodukovatelnou odpověď o amplitudě mezi 50 a 100 mV v 50% z 10 - 20 následujících pokusů. Nejčastěji se práh na horní končetině stanovuje pro m. abductor pollicis brevis či pro první m. interosseus dorsalis (Hufnagel and Elger, 1991). Dalším parametrem stimulace je celkový počet stimulů v jednom bloku stimulace, který by neměl přesáhnout údaje uváděné v tabulkách bezpečnostních parametrů rTMS pro jednotlivé frekvence a intenzity (Chen et al., 1997b).

Pro úspěšnost stimulace je důležitá přesnost navedení hot-spotu stimulační cívky nad požadovaný cíl. Pro orientační navigaci je možno užít elektrodovou EEG čepici a orientovat se pomocí umístění standardních elektrod. Pro přesnou navigaci cívky je ovšem nutná tzv. bezrámová stereotaktická navigace. Jedná se o přístroj, kterým je možno navést cívku nad požadovaný cíl v reálném čase při vizuální kontrole pohybu cívky vzhledem k hlavě pacienta a jeho MR snímkům mozku. Souprava se skládá z řídicí jednotky (Brainsight, Rogue Researche, Canada), která je propojena s kamerou umístěnou nad hlavou subjektu. Tato kamera snímá polohu trojice odrazových bodů v prostoru, které jsou upevněny na hlavě subjektu, na stimulační cílce a dále na mobilním ukazovátku (obr. 5b). Po načtení MRI snímků stimulovaného subjektu do řídicí jednotky a označení cíle přistupujeme k registraci polohy hlavy subjektu v prostoru vzhledem k trojici odrazových bodů připevněných na čelence pomocí ukazovátko a referenčních bodů na hlavě (např. špička nosu, nasion...). Poté software řídicí jednotky koregistruje polohu hlavy a načtená MRI data v počítači. Tímto lze navádět cívku nad požadovaný cíl v reálném čase za vizuální kontroly polohy cívky a cíle na monitoru počítače.

Obr. 5: Příslušenství repetitivní transkraniální magnetické stimulace. A) rentgenový snímek osmičkové cívky, kde je patrný navinutý vodič. B) dvě trojice reflexních bodů sloužící k zaměření cívky nad požadovanou oblast jsou součástí bezrámové stereotaxe (Brainsight, Rogue Research, Canada). C) součásti zařízení pro rTMS - řídicí počítač, jednotka a čtyři kondenzátory (Magstim, Whitland, UK).



4. Popis jednotlivých studií

Tato kapitola stručně popisuje strategii, metodiku a výsledky jednotlivých provedených studií. Podrobný popis studií v anglickém jazyce včetně literárních citací je uveden v článcích na konci této práce (viz jednotlivé přílohy).

4.1. Studie I – mozkové oblasti s vlastností časového akumulátoru dle fMRI

4.1.1. Úvod

Vnímání plynoucího času je jednou ze základních funkcí mozku podmíněné teoretickou existencí „vnitřních hodin“. Čas je důležitým aspektem zpracování senzorické informace,

kognitivních procesů i produkce motorické odpovědi. Problematicke vnímání času byla věnována již řada zobrazovacích studií. Rozdílné metodologické přístupy zaměřené na různé aspekty percepce času v řádu milisekund i sekund vedly k vytipování řady kortikálních i subkortikálních oblastí. Z dosavadních výsledků však lze jen obtížně usuzovat, jakým způsobem mozek vnímá plynutí času a zdali v mozku existují oblasti sloužící výhradně k percepci času nebo je čas měřen víceúčelovými asociačními oblastmi, které jsou zapojeny do jiných paralelních procesů, jako je zaměřená pozornost nebo pracovní paměť. Tato práce je zaměřena na oblasti mozku, které se aktivují při řešení jednoduché časové úlohy a dále oblasti, které mají roli tzv. „akumulátoru“ času, což jsou oblasti, jejichž aktivita roste nebo klesá s postupujícím časem, a které zřejmě plní funkci pracovní paměti pro ukládání informací o uplynulém čase v řádu sekund.

4.1.2. Metodika

Pokusné osoby

Do studie bylo zařazeno 9 zdravých dobrovolníků (6 mužů, 3 ženy, ve věku 23–49 let). Jejich pravorukost byla ověřena testem stranové dominance. Informovaný souhlas byl získán od všech osob a studie byla schválena etickou komisí.

Úloha

Při úloze TRT byl každý z 8 intervalů v trvání 5.00; 5.95; 7.07; 8.41; 10.00; 11.89; 14.14 a 16.82 s použit dvakrát v pseudonáhodném pořadí. Indiferentní podnět (šedý křížek) mezi fázemi prezentace a reprodukce byl zobrazen po dobu 10 s. Vizuální podnět během fáze reprodukce zůstal zobrazen až do doby 1.5 násobku doby reprodukováného intervalu zobrazeného ve fázi prezentace. Před vyšetřením fMRI byla TRT úloha podrobně vysvětlena a natrénována mimo MR přístroj. Pro maskování vlivu motorických oblastí aktivovaných pohybem ukazováku byla použita subtrakční úloha s náhodným stiskem tlačítka. Během šestiminutové úlohy s náhodným stiskem tlačítka bylo úkolem subjektu přibližně desetkrát stisknout tlačítko joysticku pomocí ukazováku pravé ruky.

Funkční magnetická rezonance

Vyšetření fMRI bylo provedeno na 1,5 T tomografu Siemens Symphony pomocí gradient-echo echo-planar (GE-EP) sekvence (TR=2,9 s, TE=56 ms, FA=90 st). Během řešení TRT úlohy bylo pořízeno 260 dynamických skenů mozku skládajících se z 25 axiálních řezů

silných 4 mm. Morfologické zobrazení mozku bylo pořízeno pomocí konvenční T1-vážené sekvence s řezy o síle 1,6 mm. Zpracování dat bylo provedeno pomocí programu SPM, skupinová analýza byla provedena pomocí obecného lineárního modelu dvěma způsoby:

a) Event-related analýzou, kdy událostí byl míněn okamžik začátku/konce fáze prezentace nebo reprodukce.

b) Parametrickou analýzou, kdy událostí byla celá fáze prezentace nebo reprodukce a zajímala nás korelace vzrůstu/poklesu aktivace s délkou časového intervalu.

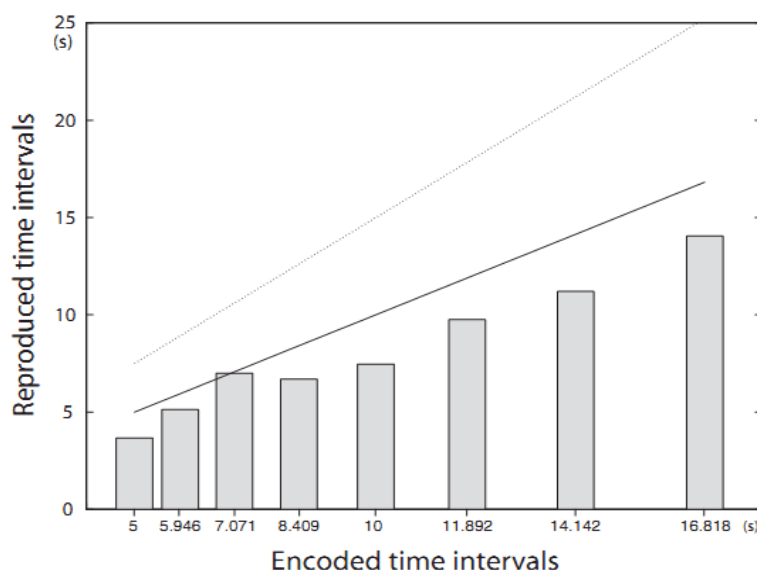
V případě parametrické analýzy byla hemodynamická funkce signálu vážena parametrem, který odpovídal logaritmu trvání intervalu ve fázi percepce transformovaného do intervalu od -1 (pro nejkratší interval 5.00 s) do +1 (pro nejdelší interval 16.82 s). Pro odstranění nízkofrekvenčních artefaktů byl použit filtr 128 s. Výsledky skupinové event-related i parametrické analýzy jsou zobrazeny na hladině významnosti $p < 0.05$ (event-related analýza) a $p < 0.01$ (parametrická analýza) s korekcí pro vícečetná porovnání typu FWE (Family Wise Error) a FDR (False Discovery Rate).

4.1.3. Výsledky

Behaviorální data

Reprodukce všech intervalů byla pokusnými osobami podhodnocená oproti reálnému trvání intervalu v průměru o 18% (obr. 6).

Obr. 6: Behaviorální výsledky. Průměrná hodnota reprodukce pro všechny subjekty je zobrazena jako funkce skutečného trvání intervalu. Tmavá úsečka zobrazuje fyzikální trvání intervalů a světlá úsečka zobrazuje čas, při kterém skončil čas vymezený pro reprodukci (zmizel čtverec se zeleným křížkem).



Event-Related analýza

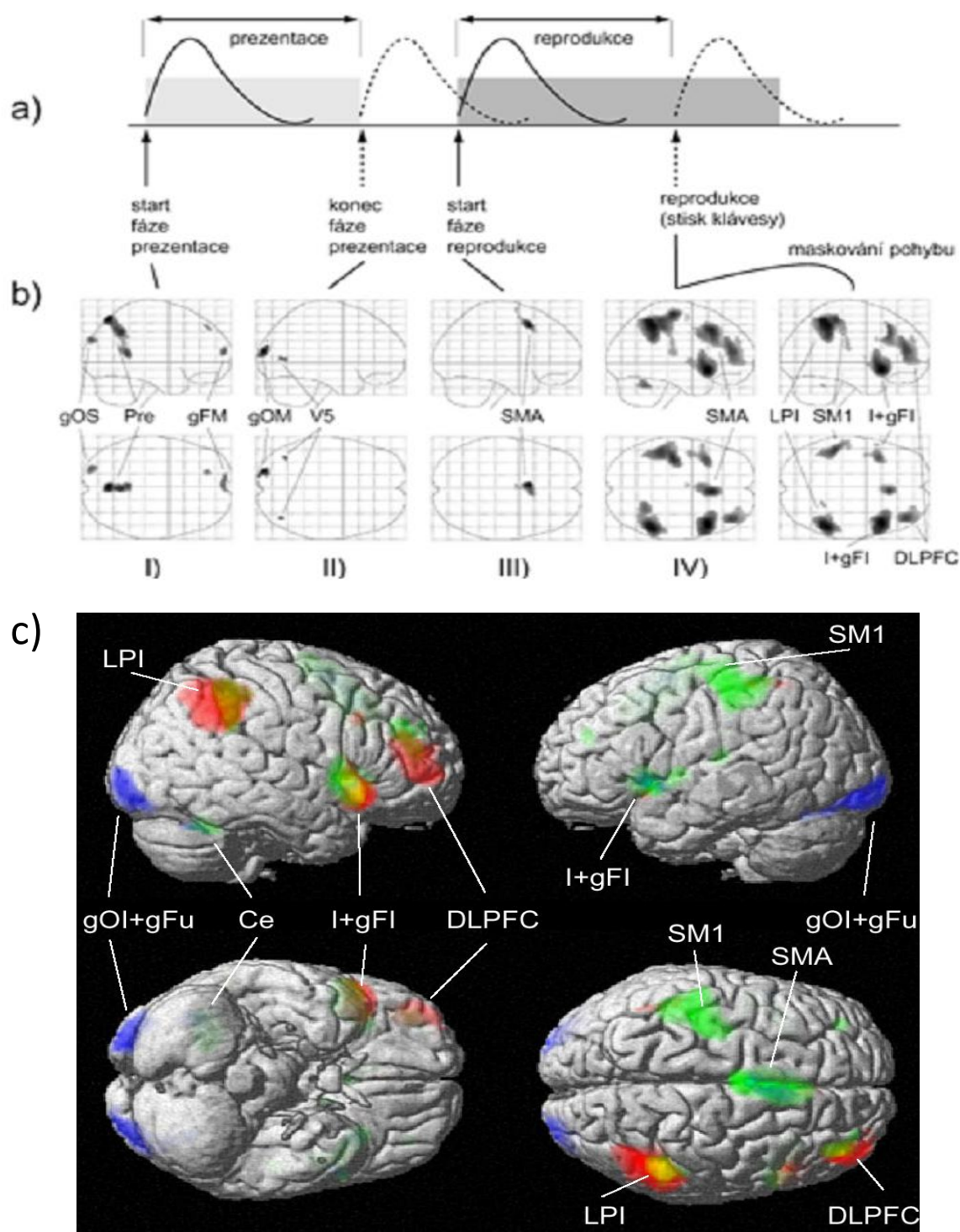
Začátek fáze prezentace (obr. 7I) byl spojen se zvýšenou aktivitou v levém horním occipitálním gyru. Na mediální ploše parietálních laloků došlo zároveň k aktivaci precuneu a posteriorní části gyrus cinguli. Frontálně se aktivovala rostrální porce gyrus frontalis medialis oboustranně. Skončení prezentace (obr. 7II) bylo doprovázeno aktivací posteriorní části gyrus occipitalis medius a symetricky oboustrannou aktivací v jeho anterolaterální části (vizuální oblast - V5). Při zahájení reprodukce (obr. 7III) se objevila aktivace ve střední části gyrus frontalis medialis odpovídající SMA. Konečná fáze reprodukce vymezená stiskem tlačítka (obr. 7IV) byla doprovázena rozsáhlou aktivací frontálních a parietálních laloků. Oblasti, které se aktivovaly současně i během úlohy s náhodným stiskem tlačítka, byly potlačeny subtrakcí. Na výsledném obraze konečné fáze reprodukce se vpravo podílela aktivace rostrální porce SMA, DLPFC, mozeček a lobulus parietalis inferior. Ten se částečně aktivoval i v levé hemisféře, přičemž vzadu navazoval na cluster aktivace v SM1. Insula a frontální operculum se aktivovaly oboustranně (tab. 3).

Tab. 3: Mozkové oblasti aktivované v jednotlivých fázích úlohy. Event-related analýza.

Začátek fáze percepce	BA	x	y	z	T	P (s FWE korekci)
precuneus bilat.	7	0	-70	56	6,60	0,0001
g. cinguli bilat.	23, 31	-2	-48	10	5,89	0,0001
g. frontalis medialis sin.	10	-12	66	16	5,64	0,001
g. occipitalis superior sin.	19	-24	-90	28	5,70	0,001
konec fáze percepce	BA	x	y	z	T	P (s FWE korekci)
g. occipitalis medius sin.	18, 19	-22	-92	18	5,68	0,001
g. occipitalis medius sin.	19, 39	-40	-68	4	5,32	0,004
g. occipitalis medius dex.	19, 39	40	-72	6	5,28	0,005
začátek fáze reprodukce	BA	x	y	z	T	P (s FWE korekci)
g. frontalis medialis + g. cinguli	32	-4	12	48	6,05	0,0001
konec fáze reprodukce (stisk tlačítka)	BA	x	y	z	T	P (s FWE korekci)
g. frontalis medius dex.	10, 46	40	44	16	7,82	0,0001
g. frontalis inferior dex. + insula	47	48	18	-10	9,64	0,0001
g. frontalis inferior sin. + insula	47	-36	16	-4	7,11	0,0001
g. cinguli dex.	32, 24	6	22	44	8,34	0,0001
lobulus parietalis inferior dex.	39, 40	52	-46	50	9,46	0,0001
g. precentralis sin. +	4, 3, 1, 2	-46	-38	56	7,84	0,0001
g. postcentralis cerebellum dex.		-50	-20	14	5,54	0,001

BA – Brodmannova area, x, y, z – souřadnice ve standardizovaném stereotaktickém prostoru MNI, T – skóre, P – hladina významnosti při FWE korekci

Obr. 7: Výsledek skupinové event-related analýzy fMRI ($p < 0.05$ FWE). A) schéma úlohy TRT a očekávaný průběh hemodynamické odpovědi pro jednotlivé fáze. B) Aktivace vázaná na jednotlivé fáze TRT. I) – precuneus (Pre), g. occipitalis superior (gOS), g. frontalis medius (gFM); II) – g. occipitalis medius (gOM); III) – SMA; IV) – SM1, DLPFC, lobulus parietalis inferior (LPI), insula a přilehlá část g. frontalis inferior (I+gFI). C) Mozkové oblasti aktivované v celém průběhu úlohy.



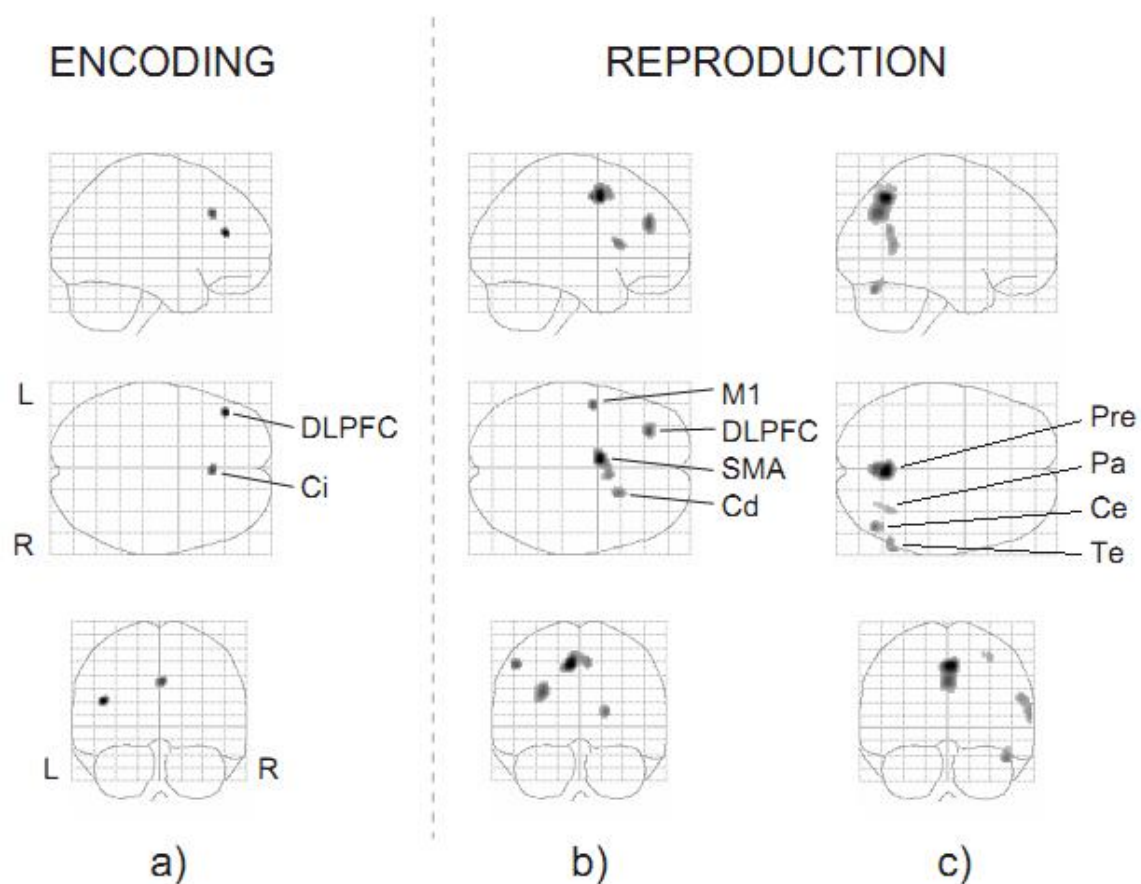
Parametrická analýza

Ve fázi prezentace byla zaznamenána inverzní korelace BOLD signálu s délkou časového intervalu (tj. čím delší časový interval, tím větší pokles signálu) v levé DLPFC a předním cingulu (obr. 8a). Pozitivní korelace nebyla ve fázi prezentace pozorována v žádné oblasti. Během reprodukce byl vedle poklesu v řadě oblastí pozorován i kumulativní nárůst BOLD signálu (obr. 8b), v levé DLPFC (obr. 9), SM1, SMA bilaterálně a v pravém nucleus caudatus. Inverzní korelace byla ve fázi reprodukce zjištěna posteriorně v pravé hemisféře – v oblastech zahrnující horní parietální lalok a zadní temporální lalok (obr. 8c). K nejrozsáhlejšímu inverznímu poklesu signálu s nárůstem délky reprodukováného intervalu však došlo na vnitřní ploše obou parietálních laloků v oblasti precuneu (tab. 4). Při parametrické analýze úlohy s náhodným stiskem tlačítka nebyly mezi úrovní BOLD signálu a uplynulým časem zaznamenány žádné korelace.

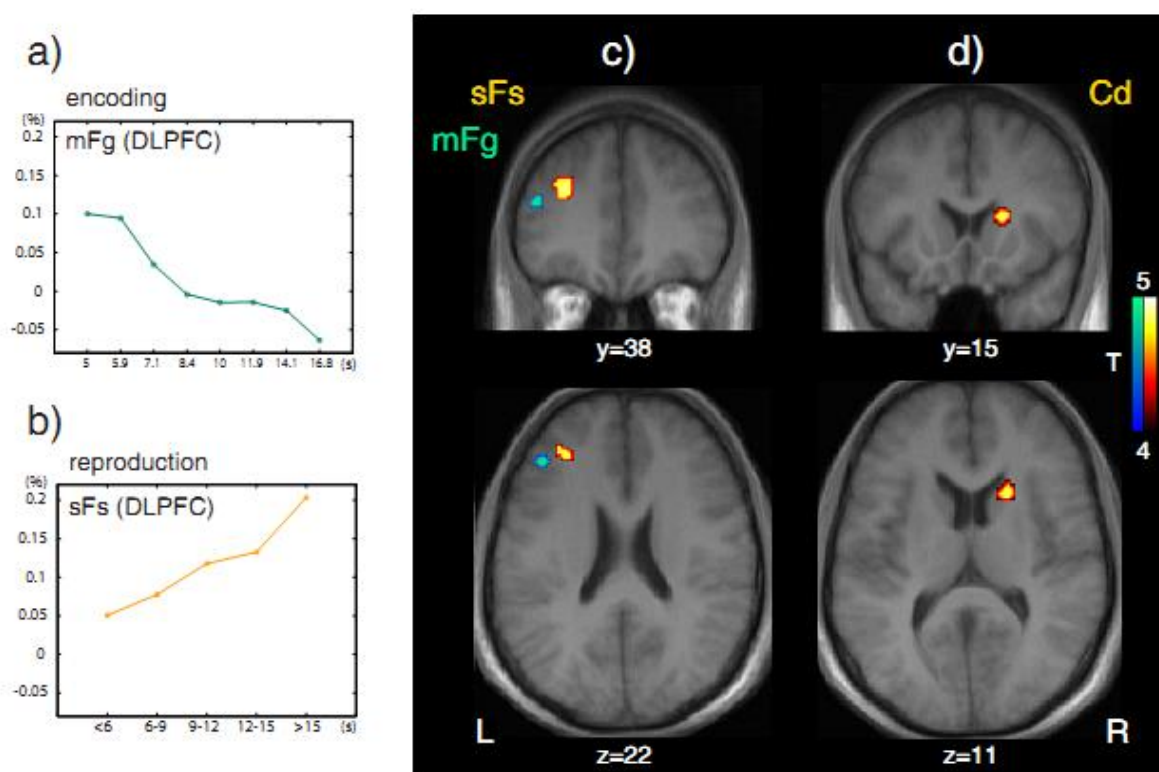
Tab. 4: Mozkové oblasti aktivované v jednotlivých fázích úlohy. Parametrická analýza.

	Region	BA	Voxels	x	y	z	T	p (false discovery rate corrected, $p < 0.01$)
<u>Fáze prezentace – negativní korelace:</u>								
g. frontalis medius sin.	DLPFC	9, 46	25	-44	36	20	5.14	0.009
g. cinguli dex.		32	31	2	26	36	4.93	0.009
<u>Fáze reprodukce – pozitivní korelace:</u>								
sulcus frontalis superior sin.	DLPFC	9	112	-28	40	28	4.91	0.003
g. frontalis medius bil.	SMA	32	223	-8	2	48	5.45	0.002
g. precentralis sin.	MI	4, 6	33	-50	-4	48	4.88	0.003
ncl. caudatus dex.			46	20	16	12	4.73	0.004
<u>Fáze reprodukce - negativní korelace:</u>								
precuneus bil.		7, 31	457	2	-62	48	5.80	0.0003
lobulus parietalis superior dex.	SPC	7	29	32	-58	56	4.29	0.005
g. temporalis superior et medius dex.	PTC	22, 21	87	64	-56	12	4.55	0.002
cerebellum dex.			54	46	-70	-24	4.80	0.001

Obr. 8: Výsledek skupinové parametrické analýzy fMRI ($p < 0.05$ FDR). A) graduální deaktivace ve fázi prezentace - DLPFC, cingulum (Ci) B) akumulace aktivity ve fázi reprodukce - SMA, SM1, caudatum (Cd), DLPFC. C) graduální deaktivace ve fázi reprodukce – horní parietální lalok (Pa), precuneus (Pre), horní temporální lalok (Te), Cerebellum (Ce).



Obr. 9: Grafické znázornění akumulace aktivity či graduální deaktivace. A) graduální deaktivace levostranné DLPFC v průběhu fáze prezentace. B) akumulace aktivity sousední levostranné DLPFC v průběhu fáze reprodukce. C) Sousední oblasti v levostranné DLPFC, jejichž aktivita se lineárně měnila v čase. sFs – sulcus frontale superior, mFg – gyrus frontalis medius. D) Oblast caudata (Cd), kde se aktivita graduálně akumulovala ve fázi reprodukce.



4.1.4. Diskuze

Event-related analýza prokázala zvýšenou aktivitu v různých fázích úlohy v řadě oblastí pravé hemisféry (SMA, DLPFC, frontální operculum, cingulum a parietální kůra. Vlevo se aktivovala SM1, SMA a frontální operculum. Bilaterálně se aktivovala primární a sekundární zraková oblast. Event-related analýza sice umožnila tyto oblasti přesně lokalizovat a také určit jejich časovou posloupnost, ale vzhledem k tomu, že TRT je komplexní kognitivní úlohou, nevypovídá tato aktivace o jejich konkrétní úloze v procesu vnímání času. Například aktivované sekundární zrakové oblasti se nejspíše podílejí na diskriminaci specifických vlastností vizuálního podnětu a jejich aktivita bývá pozorována i v úlohách náročných na vizuální pozornost. Aktivace SMA, DLPFC, PPC a frontálního opercula byla u časových úloh v minulosti pozorována opakovaně. Přestože jsou tyto oblasti pro řešení TRT zřejmě

nezbytné, event-related analýza nevypovídá nic o jejich konkrétní úloze v percepci času. K jejich aktivaci navíc dochází i při jiných kognitivních procesech spojených se zaměřenou pozorností a pracovní pamětí.

Pomocí parametrické analýzy jsme identifikovaly několik oblastí mozku, jejichž aktivita korelovala s délkou odhadovaného intervalu a tyto oblasti mohou hypoteticky plnit postulovanou roli časového akumulátoru. Tyto oblasti se pouze částečně překrývaly s těmi aktivovanými při event-related analýze a překvapivě se lišily pro fázi prezentace a reprodukce. Výjimkou byla levostranná DLPFC, ve které došlo k signifikantním změnám signálu během obou fází úlohy. Při prezentaci se signál v levém gyrus frontalis medius s prodlužující se délkou časového intervalu vybíjel, zatímco v sousední, jen 9 mm vzdálené oblasti uložené v hloubi sulcus frontalis superior, se signál během reprodukční fáze akumuloval. Z toho vyplývá, že DLPFC možná plní funkci úložiště informací nějak souvisejících s časem. Při bližším pohledu na strategii řešení TRT úlohy mohou tyto zcela protichůdné děje, kdy v první fázi úlohy signál klesá a při druhé stoupá, odrážet opačné kognitivní procesy. Můžeme jen spekulovat, zda v průběhu první fáze TRT úlohy subjekt posuzuje délku uplynulého času vůči zahájení prezentace (tzn. odhad směrem do minulosti, protože o budoucnosti žádnou informaci nemá), přičemž v následné fázi reprodukce průběžně odhaduje čas, který zbývá do okamžiku stisknutí tlačítka (tzn. odhad směrem do budoucnosti). V takovém případě by se hypotetický akumulátor času v jedné fázi vybíjel a ve druhé nabíjel. Naše výsledky však naznačují, že princip akumulátoru je zřejmě mnohem složitější. Jeho funkci neplní jedna, ale pravděpodobně více oblastí tvořící síť, které mezi sebou úzce spolupracují a aktivují se zřejmě dle specifických požadavků konkrétní úlohy. Akumulace aktivity v ncl. caudatus a SMA při reprodukci, podporuje předpokládaný význam frontostriálního systému v percepci času. Oproti klasické představě, že „akumulátor“ může být pouze kognitivní oblast, jsme zaznamenali pozitivní korelaci reprodukováného času a BOLD signálu v levé primární senzori-motorické oblasti. Aktivace SM1 by sice mohla reflektovat přípravnou fázi motorické odpovědi, proti tomu však relativně svědčí výsledek úlohy s náhodným stiskem tlačítka, v které jsme podobnou korelaci signálu s uplynulým časem nenalezli. Je tedy pravděpodobné, že aktivita z ncl. caudatus a SMA, která roste s délkou časového intervalu, se ve fázi reprodukce přenáší na oblast SM1, která při dosažení kritické aktivace (a uběhnutého času) spustí motorickou odpověď.

4.2. Studie II – ovlivnění odhadů času pomocí rTMS SMA a precuneu

4.2.1. Úvod

Aktivace oblastí mozku v fMRI při řešení úlohy zaměřené na odhady času je pouze nepřímý ukazatel jejich role v percepci času. V této studii jsme se proto zaměřili na ověření role SMA a precuneu (aktivovaných v naší fMRI studii) v percepci času pomocí rTMS. Použili jsme k tomu stejnou úlohu jako v předchozí studii, tedy TRT s intervaly v rozmezí 5 – 16.82 sekund. SMA je oblast, která se velmi konzistentně aktivuje při úlohách zaměřených na percepci času. Dvě dosud provedené rTMS studie zaměřené na ověření role SMA v percepci času byly překvapivě negativní. Efekt rTMS oblasti SMA na přesnost v úloze reprodukce časových intervalů jsme porovnali s efektem rTMS oblasti precuneu. Precuneus je oblast, jejíž role v percepci času není přesvědčivě prokázána a význam graduální deaktivace během fáze reprodukce TRT je nejasný. TMS SMA a precuneu je vzhledem k jejich lokalizaci na mediální straně hemisféry relativně nebolestivá, neboť v blízkosti místa stimulace není žádný sval. Vzhledem k nepříjemnému senzorickému doprovodu stimulace, který ruší koncentraci na odhadování času, není výhodné provádět stimulace během provádění úlohy. Zvolili jsme tedy specifický rTMS protokol, tzv. intermitentní „theta-burst“ protokol, který spočívá v krátkých salvách stimulů o vysoké frekvenci (50 Hz). Bylo prokázáno, že způsobuje dlouhodobé zvýšení (až 60 minut) excitability motorického kortexu. Předpokládali jsme, že změny v aktivitě SMA po excitační stimulaci způsobí zvýšení přesnosti a/nebo snížení variability odhadů času.

4.2.2. Metodika

Pokusné subjekty

Do studie bylo zařazeno 19 zdravých dobrovolníků (8 mužů, průměrný věk 25.9 ± 3 (SD)). Jejich pravorukost byla ověřena testem stranové dominance. Informovaný souhlas byl získán od všech osob a studie byla schválena etickou komisí.

Úloha reprodukce časových intervalů

V úloze byly použity 3 intervaly o trvání 5, 10 a 16.82 sekund, každý opakovaný celkem šestkrát v pseudonáhodném pořadí. Mezi fází prezentace a reprodukce byl zobrazen

indiferentní stimulus po dobu 3 sekund, stejně jako po skončení fáze reprodukce. Fáze reprodukce byla ukončena až stiskem tlačítka.

Transkraniální magnetická stimulace

V experimentu jsme použili intermitentní theta-burst TMS protokol, intensity 100% motorického prahu m.tibialis anterior dx. po dobu 190 sekund (celkem 600 pulzů) za použití osmičkové, vzduchem chlazené 70mm cívky připojené k řídící jednotce Magstim Rapid stimulator (Magstim, Whitland, UK). Cívku jsme zaměřili pomocí systému bezrámové stereotaxe Brainsight (Rogue Research, Montreal, Canada) na cílové koordináty určené podle místa nejvyšší aktivace v našem předchozím fMRI experimentu, definované ve standardním stereotaktickém prostoru Montreal Neurological Institute (MNI) jako (x=0, y=-62, z=48) pro precuneus a (x=0, y=2, z=48) pro SMA. Tyto koordináty byly převedeny pomocí reverzní normalizace do nativního prostoru každého subjektu. Pro reverzní normalizaci byl použit software SPM.

Průběh experimentu a analýza

Každý subjekt provedl úlohu TRT celkem čtyřikrát, před stimulací (pre-TMS blok) a po stimulaci (post-TMS blok) precuneu a před stimulací a po stimulaci SMA. Stimulace začala cca 10 minut po pre-TMS bloku a post-TMS blok začal ihned po skončení stimulace. Stimulace SMA a precuneu byla provedena v dvou po sobě jdoucích dnech kvůli únavě a bezpečnosti. 50% účastníků zahájilo experiment stimulací precuneu a 50% stimulací SMA.

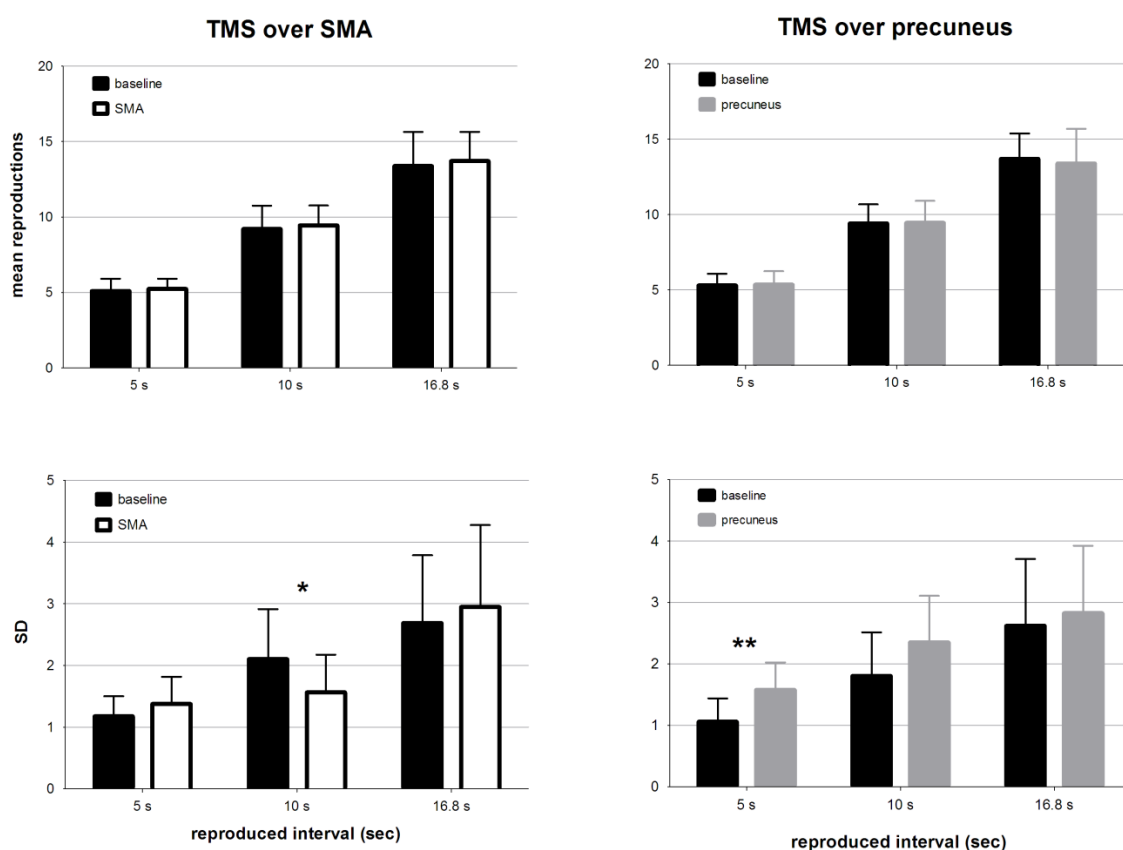
Data byla statisticky zpracována čtyřmi analýzami pomocí dvoufaktorové ANOVA pro opakovaná měření s faktory TMS (pre-TMS, post-TMS) a interval (5, 10, 16.82 s). Analýzy byly provedeny pro obě stimulovaná místa (SMA, precuneus) na dvou proměnných: průměrný odhad časového intervalu jako míra přesnosti a směrodatná odchylka odhadů jako míra variability. Post-hoc testy byly korigovány Bonferroniho metodou pro mnohonásobná porovnání.

4.2.3. Výsledky

TMS nevedla k signifikantní změně přesnosti odhadů po stimulaci SMA ($F(1, 18) = 2.02$, $p=0.17$) ani precuneu ($F(1, 18) = 0.13$, $p= 0.73$). Došlo k zvýšení variability odhadů po

stimulaci precuneu, signifikantní faktor TMS ($F(1, 18) = 12.26$, $p < 0.01$) a došlo k signifikantní interakci faktoru stimulace a délky intervalu po TMS SMA ($F(2, 36) = 3.36$, $p < 0.05$). Byly provedeny post-hoc párové t-testy, které prokázaly, že po stimulaci SMA se snížila variabilita odhadů 10 sekundového intervalu ($p < 0.05$), zatímco po stimulaci precuneu došlo ke zvýšení variability odhadů 5 sekundového intervalu ($p < 0.001$). Variabilita byla po TMS zvýšena i u všech dalších intervalů, ale nikoliv signifikantně (obr. 10, tab. 5).

Obr. 10: Průměrné reprodukce tří časových intervalů a jejich variabilita (SD – standardní odchylka) před rTMS, po rTMS SMA a po rTMS precuneu. *- signifikantní výsledky



Tab. 5: průměrné odhady a jejich variabilita před a po rTMS SMA a precuneu.

	SMA				precuneus			
	Průměrná reprodukce		SD		Průměrná reprodukce		SD	
	pre TMS	post TMS	pre TMS	post TMS	pre TMS	post TMS	pre TMS	post TMS
5 sec	5.09±0.8	5.23±0.7	1.18±0.3	1.38±0.4	5.30±0.8	5.34±0.9	1.05±0.4	1.57±0.5
10 sec	9.20±1.6	9.44±1.3	2.1±0.8	1.56±0.6	9.41±1.3	9.45±1.5	1.80±0.7	2.35±0.8
16.82 sec	13.38±2.3	13.70±1.9	2.69±1.1	2.95±1.3	13.69±1.7	13.38±2.3	2.62±1.1	2.82±1.1

4.2.4. Diskuze

Zvýšená variabilita odhadů času byla pozorována u řady patologických stavů jako Parkinsonova nemoc, schizofrenie, stavy po cévních mozkových příhodách nebo po úrazech hlavy. V našem experimentu došlo k signifikantnímu zvýšení variability 5 sekundového intervalu po stimulaci precuneu, ale zvýšená variabilita, byť nesignifikantně, byla pozorována u všech ostatních intervalů, kromě 10 sekundového intervalu po rTMS SMA. Příčinou zvýšené variability odhadů času je dysfunkce pozornosti a pracovní paměti, která v naší studii mohla vzniknout jako důsledek nepříjemného senzorického doprovodu rTMS. Hlavním výsledkem této studie je snížení variability odhadů 10 sekundového intervalu po rTMS SMA. Výsledek selektivního ovlivnění pouze jednoho časového intervalu je překvapivý a podporuje teorie o rozdílné citlivosti k různým časovým intervalům, potažmo hypotézy, že mozek měří čas pomocí soustavy oscilátorů s různými frekvencemi. V minulosti byla prokázána zvýšená citlivost (tedy snížená variabilita odhadů) potkanů k časovým intervalům v rozmezí 8-12 sekund a z toho byla odvozena hypotéza o fyziologickém oscilátoru s frekvencí blízkou 0.1 Hz. Podobnou frekvenci (0.012-0.1Hz) mají i pomalé oscilace v neurokognitivních sítích tzv. „default brain network“ a sítě spojené s funkcí zaměřené pozornosti, do které patří i SMA. Selektivní ovlivnění 10 sekundového intervalu může být i důsledkem použitého vzorce stimulace. Intermitentní theta-burst stimulace sestává z 2 sekundového pásma TBS následovaného 8 sekundovou pauzou, což způsobuje stimulaci s periodou 10 sekund. Bylo prokázáno, že pravidelný výskyt události v prostředí zvyšuje přesnost predikce dalšího výskytu této události, jakoby se fluktuace zaměřené pozornosti synchronizovaly s periodou události. Je však nepravděpodobné, že snížení variability bylo způsobeno pouze senzorickým doprovodem TMS, neboť nedošlo ke snížení variability po rTMS precuneu, která byla doprovázena identickým senzorickým doprovodem. Snížení variability odhadu 10 sekundového intervalu je tedy specifickým efektem stimulace SMA, která mohla být „naprogramována“ na 10 sekundový interval pomocí periodické TBS, hypoteticky i zvýšením intenzity oscilací fyziologického oscilátoru o frekvenci 0.1 Hz. Toto je první průkaz možnosti ovlivnění SMA pomocí rTMS.

4.3. Studie III – Neurofyziologický podklad poruchy percepce času u PN

4.3.1. Úvod

V tomto experimentu jsme pátrali po neuroanatomickém podkladu poruchy percepce času u pacientů s Parkinsonovou nemocí (PN). Jedním z nejtypičtějších projevů této poruchy je tzv. migrační efekt. Jedná se o akcentaci „Vierodtova zákona“, dle kterého dochází k nadhodnocení odhadů krátkých a podhodnocení dlouhých časových intervalů pokud jsou reprodukovány v jednom bloku. Migrační efekt je pozorován pouze ve stavu bez medikace (OFF), zatímco po podání dopaminergní medikace (ON) se odhady normalizují. Cílem naší práce bylo pomocí fMRI porovnat mozkovou aktivaci během úlohy reprodukce časových intervalů ve stavu ON a OFF, reprodukovat migrační efekt a zjistit jeho neurofyziologický původ.

4.3.2. Metodika

Pokusné subjekty

Do studie bylo zařazeno 12 pacientů s PN (10 mužů, průměrný věk 60.0 ± 9 let, trvání nemoci 6.8 ± 3 let), bez průkazu významné deprese a demence. Informovaný souhlas byl získán od všech osob a studie byla schválena etickou komisí.

Průběh experimentu a analýza

Pacienti byli dvakrát vyšetřeni pomocí fMRI v rozmezí 1-2 týdnů: a) při své obvyklé dopaminergní medikaci, b) po jejím celonočním vysazení. Během vyšetření prováděli úlohu TRT a úlohu náhodného stisku tlačítka popsané ve studii I. 50% pacientů začalo experiment ve stavu ON a 50% ve stavu OFF. Experiment byl proveden pomocí event-related fMRI na 1.5T skeneru Siemens Symphony. Před vlastním experimentem byli pacienti v ON i OFF stavu vyšetřeni pomocí motorického sub-skóre UPDRS III (Unified Parkinson's Disease Rating Scale) a úlohy jednoduchého reakčního času a byla s nimi natrénována vlastní úloha TRT.

Behaviorální data byla analyzována pomocí dvou-faktorové ANOVA s faktory medikace (ON, OFF) a interval (5.00, 5.95, 7.07, 8.41, 10.00, 11.89, 14.14 a 16.82 sekund). Data z fMRI byla zpracována pomocí software Lipsia a SPM skupinovou analýzou - porovnáním

aktivace v ON a OFF stavech během fází prezentace a reprodukce. Oblast mozku se signifikantně odlišnou aktivací v obou stavech byla dále analyzována – byla spočtena změna BOLD signálu během fáze prezentace a reprodukce v obou stavech a dále byl vykreslen průběh aktivity s postupujícím časem pro všechny intervaly a zvlášť pro krátké (nadhodnocené) a dlouhé (podhodnocené) intervaly. V naší práci jsme dále hledali kvantitativní vztah mezi klinickým postižením hybnosti vyjádřené motorickým UPDRS-III skóre a činností motorické kůry vyjádřenou amplitudou BOLD signálu. K tomu jsme použili event-related analýzu BOLD aktivity při stisku tlačítka ve fázi reprodukce úlohy TRT a při spontánně iniciovaném náhodném stisku tlačítka.

4.3.3. Výsledky

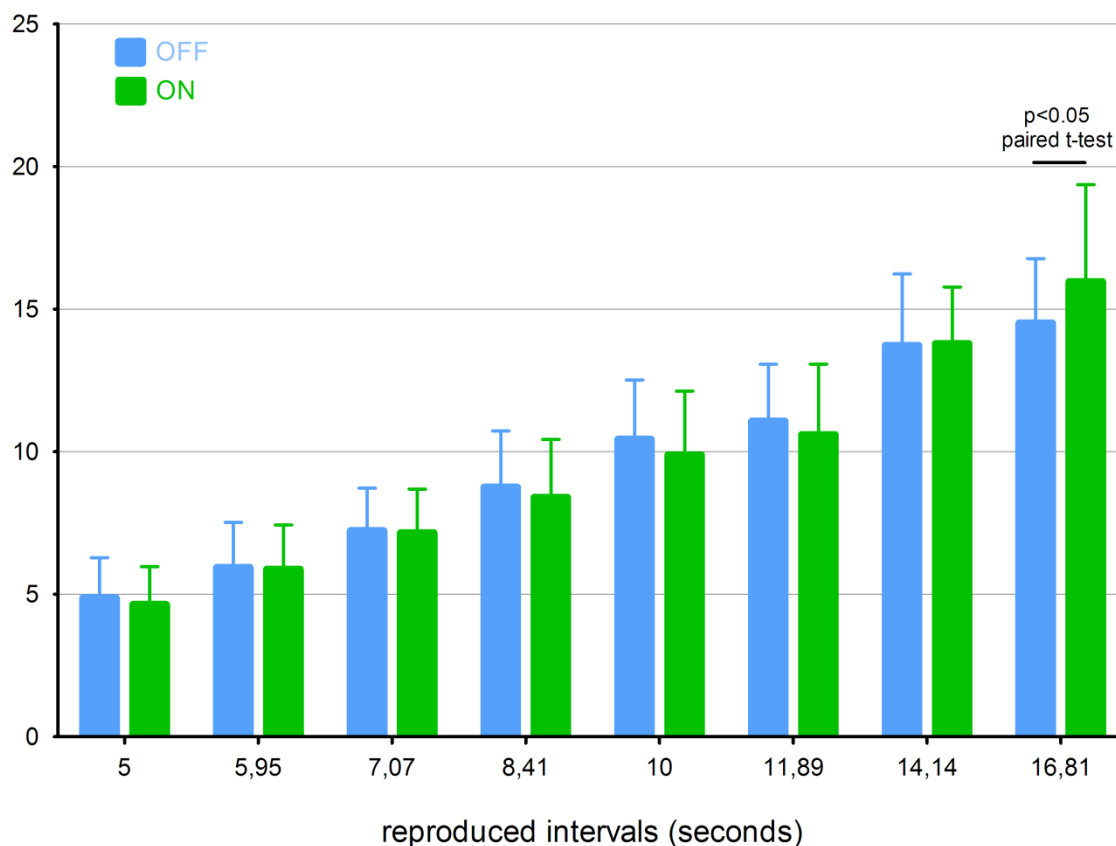
UPDRS-III skóre se významně lišilo mezi OFF (24 ± 7) a ON (16 ± 8) stavem (párový t-test, $p < 0.001$). Jednoduchý reakční čas nebyl významně odlišný mezi OFF a ON stavem (257 ± 50 ms vs 261 ± 58 ms; $p = 0.84$).

Behaviorální data reprodukovala migrační efekt, přičemž interval indiference byl mezi 11.89 a 14.14 sekundami, v OFF stavu byly kratší intervaly nadhodnocené a delší podhodnocené (tab. 6, obr. 11). Tento výsledek nebyl však signifikantní, byla patrná pouze trend k signifikantní interakci mezi faktory medikace a intervalu ($F(7, 88) = 1.8$, $p = 0.097$). Post-hoc porovnání reprodukcí jednotlivých intervalů párovým t-testem ukázalo signifikantní podhodnocení nejdelšího intervalu, 16.82 sekund, v OFF stavu ($p < 0.05$).

Tab. 6: reprodukováné intervaly v OFF a ON stavu (průměr \pm SD)

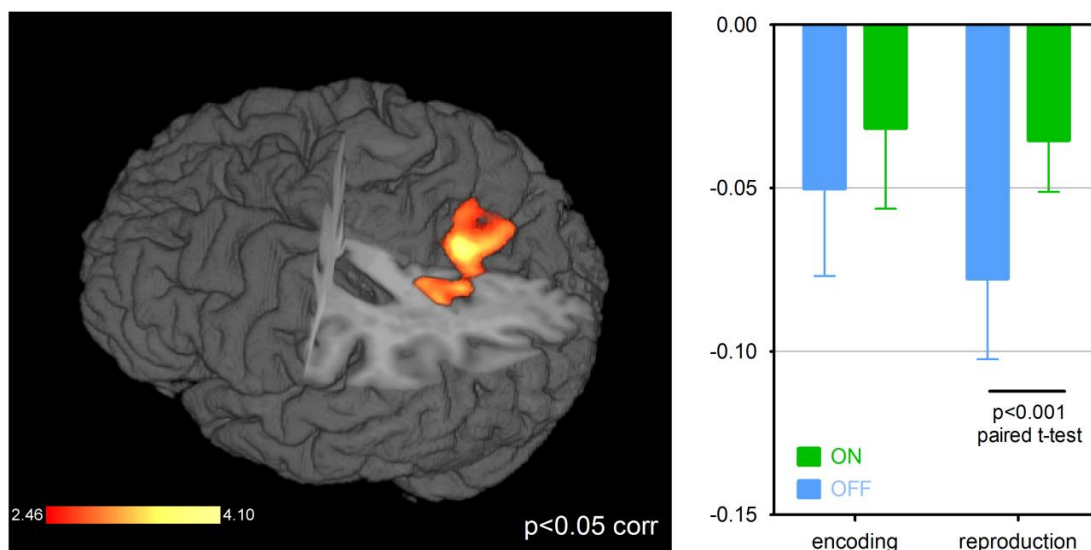
	5 s	5.95 s	7.07 s	8.41 s	10 s	11.89s	14.14s	16.82s
OFF	4.87 \pm 1.4	5.93 \pm 1.6	7.22 \pm 1.5	8.74 \pm 2.0	10.43 \pm 2.1	11.06 \pm 2.0	13.72 \pm 2.5	14.51 \pm 2.3
ON	4.63 \pm 1.3	5.87 \pm 1.6	7.15 \pm 1.5	8.39 \pm 2.0	9.88 \pm 2.3	10.59 \pm 2.5	13.79 \pm 2.0	15.96 \pm 3.4

Obr. 11: reprodukce časových intervalů v OFF a ON stavu (průměr, SD). Intervaly kratší než 11.89 s jsou v OFF stavu (modré sloupce) nadhodnocené a intervaly delší než 14.14 s podhodnocené.

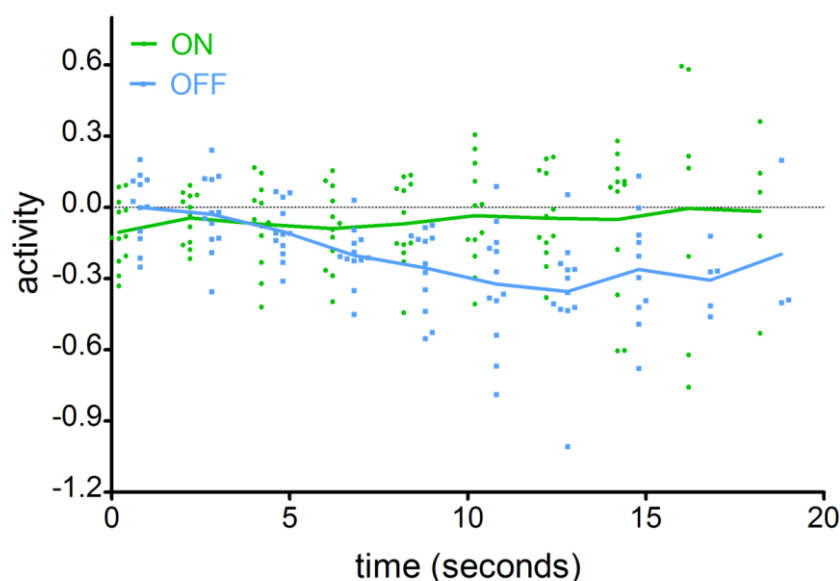


Ve fázi prezentace nebyl nalezen signifikantní rozdíl v mozkové aktivitě mezi stavy OFF a ON. Během fáze reprodukce byla nalezena v ON stavu signifikantně vyšší aktivace oboustranně v precuneu oproti OFF stavu. Podrobná analýza signálu ukázala, že v precuneu docházelo k deaktivaci v obou stavech medikace ve fázi prezentace i reprodukce, ale k signifikantnímu rozdílu, nižší deaktivaci precuneu v ON stavu, došlo pouze ve fázi reprodukce (obr. 12). Vykreslení aktivity precuneu ve fázi reprodukce ukázalo, že zatímco v OFF stavu aktivita plynule s postupujícím časem klesala, v ON stavu zůstala aktivita po celou dobu reprodukce stacionární (obr. 13). Při porovnání aktivity precuneu během prezentace a reprodukce krátkých a dlouhých intervalů je patrný signifikantní rozdíl pouze při reprodukci dlouhých intervalů (obr. 14).

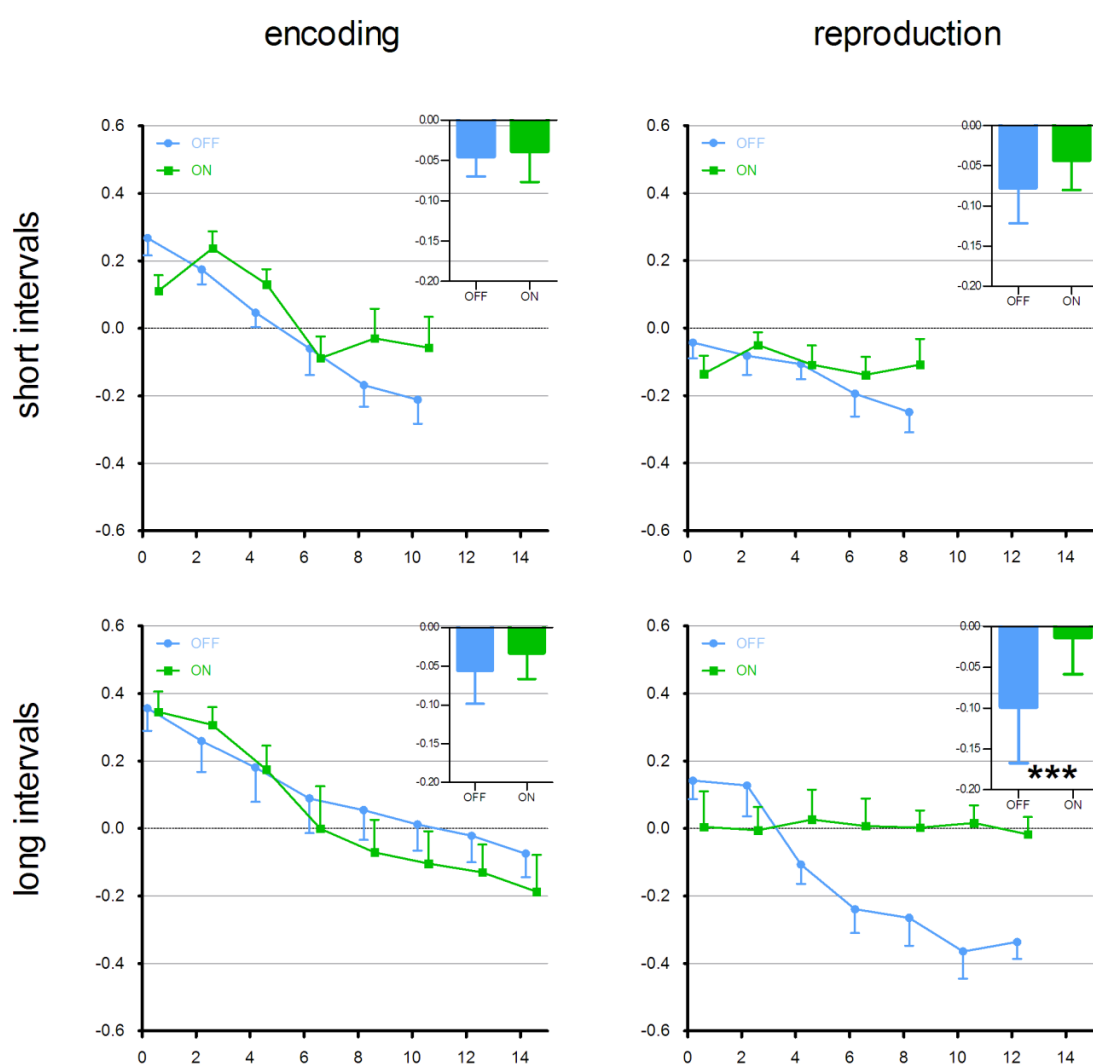
Obr. 12: Výsledky skupinové analýzy pro fázi reprodukce. Oblasti se signifikantním rozdílem v aktivaci (ON>OFF) jsou vyznačeny v trojrozměrném řezu mozku ($p < 0.05$ po korekci). Vpravo je vyznačena aktivace precuneu (koordináty $x=4, y=-62, z=26$) během fáze prezentace (vlevo) a reprodukce (vpravo). V obou fázích úlohy došlo k deaktivaci precuneu. Porovnáním mezi ON (modré sloupce) a OFF (zelené sloupce) byl zjištěn významný rozdíl pouze pro fázi reprodukce (párový t-test, $p < 0.001$).



Obr. 13: průběh aktivity v precuneu (koordináty 4 -62 26) během fáze reprodukce. Každý bod znázorňuje průměrnou aktivitu (osa y) jednoho subjektu pro všechny intervaly v jeden bod v čase (osa x). Čáry spojují skupinové průměry pro OFF (modrá) a ON (zelená) stavy.



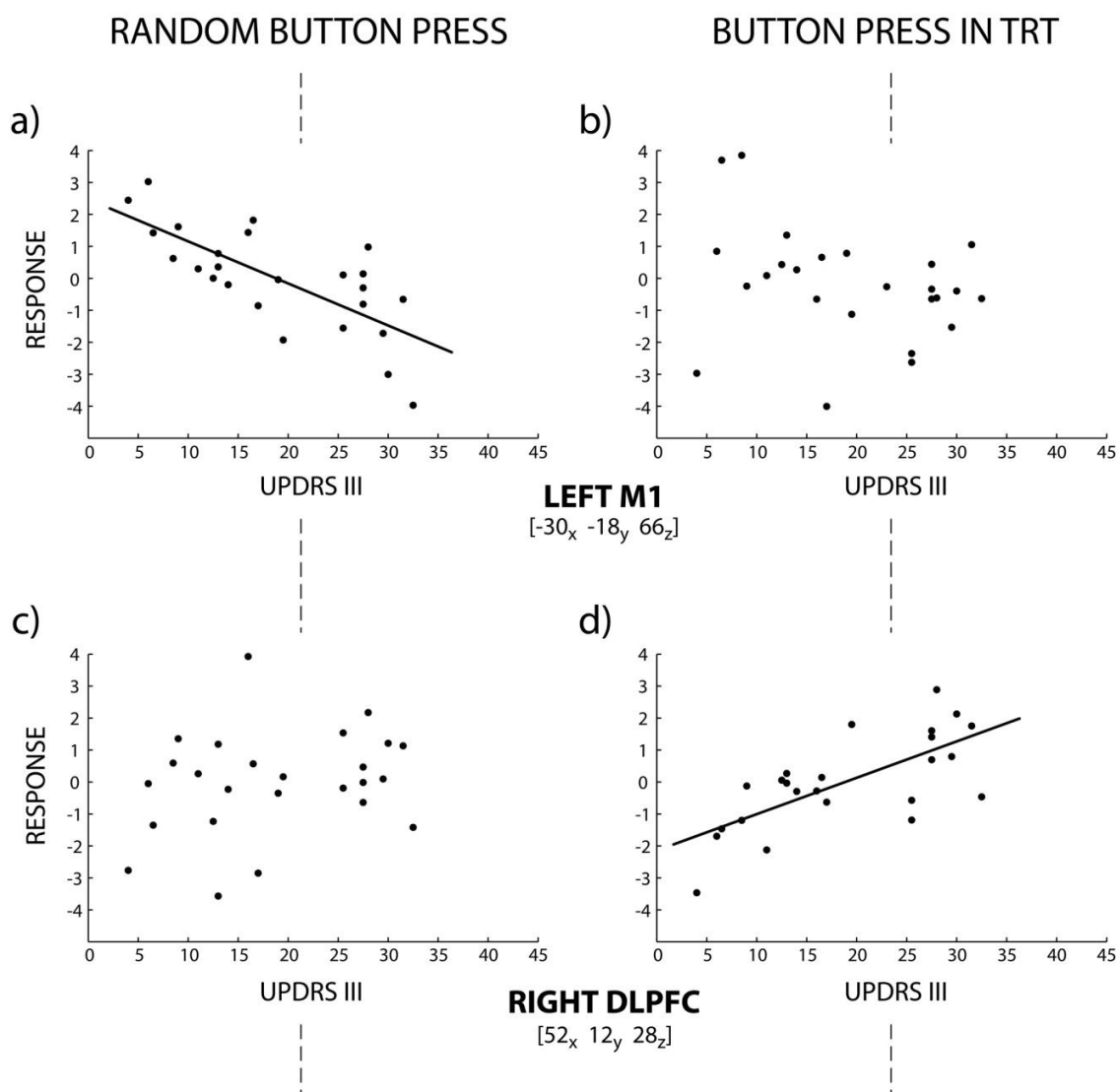
Obr. 14: průběh aktivity v precuneu (koordináty 4 -62 26) dle délky intervalu a fáze úlohy. Aktivita je vykreslena pro intervaly <11.89 s ve fázi prezentace (nahore vlevo) a reprodukce (nahore vpravo) a pro intervaly >14.14 s ve fázi prezentace (dole vlevo) a reprodukce (dole vpravo). Grafy znázorňují skupinové průměry \pm standardní chybu průměru (SE) pro OFF (modrý) a ON (zelený) stav. Časové body, kde nebyla k dispozici data aspoň od šesti subjektů, s podmínkou aspoň tří pozorování od jednoho subjektu, nebyly zahrnuty. Proto je znázorněn průběh aktivity do 10 s u prezentace a 8 s u reprodukce krátkých intervalů a do 14 s u prezentace a 12 s reprodukce dlouhých intervalů. Sloupcové grafy v pravých horních rozích znázorňují průměrnou aktivitu (***) statisticky významný rozdíl).



Při porovnání korelace mozkové aktivity s tíží projevů parkinsonské symptomatiky nezávisle na stavu medikace jsme zjistili, že mozek se chová jinak při náhodném a načasovaném stisku tlačítka (obr. 15). Při náhodném stisku tlačítka byla zaznamenána inverzní korelace mezi

intenzitou BOLD signálu v levostranném primárním motorickém (M1) kortexu a aktuálním motorickým skóre UPDRS-III ($p < 0.0001$). Při TRT úloze došlo k jevu zcela odlišnému. V pravostranné DLPFC korelovala intenzita BOLD signálu s UPDRS-III skóre pozitivně ($p < 0.0001$).

Obr. 15: Korelace mezi UPDRS-III skóre a aktivitou v M1 a DLPFC při stisku tlačítka. Porovnání aktivity při náhodném stisku tlačítka (vlevo) a načasovaném stisku tlačítka (vpravo) v úloze TRT. Aktivita v M1 (nahore) negativně korelovala s UPDRS-III při náhodném stisku tlačítka, zatímco v DLPFC (dole) aktivita pozitivně korelovala s UPDRS-III při načasovaném stisku tlačítka.



4.3.4. Diskuze

Reprodukce časových intervalů vykazovala migrační efekt v OFF stavu, signifikantní rozdíl byl však pouze pro odhad 16.82 sekundového intervalu svědčící pro větší postižení delších intervalů, jejichž reprodukce je náročnější na kapacitu pracovní paměti. Jednou z příčin nepřesných odhadů času u pacientů s PN je zřejmě narušené vybavení paměťové stopy o trvání časového intervalu. Význam precuneu v procesu vybavení paměťové informace byl popsán. Domníváme se, že vyšší aktivace precuneu v ON stavu je má kompenzatorní charakter a je odrazem zapojení precuneu do procesu vybavení paměťové stopy o délce časového intervalu. Změna aktivity precuneu byla patrná pouze u reprodukce dlouhých intervalů, u kterých byla zaznamenána rovněž nejvýraznější behaviorální změna. Zvýšení aktivity v precuneu u PN po podání dopaminergní medikace bylo v minulosti popsáno. V naší studii se však nejednalo o prostý metabolický efekt, neboť změna byla pozorována specificky pouze ve fázi reprodukce.

Dále studie prokázala vliv dopaminergní medikace na funkci prefrontální a motorické kůry u pacientů s PN. Z našich výsledků vyplývá, že chování M1 a DLPFC oblasti je pravděpodobně omezeno funkční kapacitou okruhů, které jsou pro daný typ úlohy k dispozici. Zatímco pro náhodně iniciovaný stisk tlačítka je zřejmě kritická role M1, plánovaný stisk tlačítka v očekávanou dobu je naopak limitován funkcí pravostranné DLPFC, což je oblast, která se kromě jiných kognitivních úloh aktivuje právě při percepci času. Tyto výsledky svědčí pro jiný neurofyzilogický podklad stisku tlačítka v náhodném čase a předem naučeném čase. Stisk v náhodném čase je závislý především na primárním motorickém kortexu, který je méně aktivován při horším motorickém stavu. Naopak časovaný stisk je závislý na asociačních mozkových oblastech, zejména DLPFC, která se aktivuje více při horším motorickém stavu u pacientů s Parkinsonovou nemocí. Toto je konzistentní nález, který bývá interpretován jako kompenzační hyperaktivace při dysfunkci způsobené hypodopaminergním stavem.

5. Závěry

- A. Podařilo se zobrazit několik oblastí mozku, jejichž aktivita klesá či roste s délkou intervalu a mohou tedy sloužit k měření uběhnutého času jako takzvané „akumulátory“. Tento náález svědčí proti existenci jediné mozkové oblasti, „vnitřních hodin“ určených výhradně pro percepci času. Mezi těmito oblastmi mozku jsou nejen víceúčelové asociační oblasti jako levostranný prefrontální kortex, SMA či striatum, ale i primární motorický kortex, což svědčí pro možné zapojení primárních senzoricko-motorických oblastí do měření času dle specifických požadavků vykonávané úlohy.
- B. Pomocí rTMS SMA jsme prokázali roli této oblasti v percepci času. Selektivní snížení variability odhadů 10 sekundového intervalu, ke kterému došlo po stimulaci SMA, podporuje teorii o rozdílné citlivosti mozku k různým časovým intervalům. Tento jev mohl být způsoben zvýšením intenzity oscilací o frekvenci 0.1 Hz v SMA, která byla způsobena vzorcem stimulace s periodou 10 sekund.
- C. U pacientů s Parkinsonovou nemocí jsme replikovali specifickou poruchu percepce času, tzv. migrační efekt a prokázali jsme, že v OFF stavu dochází během úlohy TRT k odlišné mozkové aktivaci v porovnání s ON stavem. Ve fázi prezentace jsme nepozorovali žádné rozdíly v mozkové aktivaci, ale ve fázi reprodukce došlo v ON stavu k nižší deaktivaci precuneu. Naše výsledky tedy podporují teorii, že migrační efekt je způsoben dysfunkčním vybavením paměťové stopy. Aktivace precuneu může znamenat kompenzační zapojení této oblasti při vybavování paměťové stopy o délce časového intervalu.

6. Seznam zkratk

ADHD	Attention Deficit and Hyperactivity Disorder
BA	Brodmanova area
BOLD	blood oxygenation level dependent
CNV	Kontingentní negativní variace (contingent negative variation)
(DL)PFC	(Dorsolaterální) prefrontální kortex
EEG	Elektroencefalografie
EP	Evokované potenciály
FA	Flip angle
FDR	False discovery rate
fMRI	Funkční magneticko-rezonanční zobrazování (imaging)
FWE	Family wise error
GE-EPI	Gradient-echo echo-planar paging
HN	Huntingtonova nemoc
LSD-25	Diethyl amid kyseliny lysergové
LTD	Long-term depression (dlouhodobá deprese)
LTP	Long-term potentiation (dlouhodobá potenciace)
PET	Pozitronová emisní tomografie
PN	Parkinsonova nemoc
PPC	Posteriorní parietální kortex (kůra)
(r)TMS	(repetitivní) Transkraniální magnetická stimulace
SD	Standard deviation (směrodatná odchylka)
SM1	Primární senzori-motorický kortex
SMA	Suplementární motorická area
SN	Substantia Nigra
TBS	Theta-burst stimulace
TE	Time to echo
THC	Delta (9)-Tetra-hydro-cannabinol
TR	Time to repetition
TRT	Time reproduction task (úloha reprodukce časových intervalů)
UPDRS	Unified Parkinson's rating scale (jednotná škála hodnocení PN)

7. Literatura

- Amaro, E., Jr., Barker, G. J., 2006. Study design in fMRI: basic principles. *Brain and cognition*. 60, 220-32.
- Angrilli, A., et al., 1997. The influence of affective factors on time perception. *Perception & psychophysics*. 59, 972-82.
- Apicella, P., et al., 1992. Neuronal activity in monkey striatum related to the expectation of predictable environmental events. *Journal of neurophysiology*. 68, 945-60.
- Artieda, J., et al., 1992. Temporal discrimination is abnormal in Parkinson's disease. *Brain : a journal of neurology*. 115 Pt 1, 199-210.
- Assmus, A., et al., 2005. Difficulty of perceptual spatiotemporal integration modulates the neural activity of left inferior parietal cortex. *Neuroscience*. 132, 923-7.
- Bares, M., et al., 2007. Impaired predictive motor timing in patients with cerebellar disorders. *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Experimentation cerebrale*. 180, 355-65.
- Barkley, R. A., et al., 2001. Time perception and reproduction in young adults with attention deficit hyperactivity disorder. *Neuropsychology*. 15, 351-60.
- Barnes, G. R., Asselman, P. T., 1991. The mechanism of prediction in human smooth pursuit eye movements. *J Physiol*. 439, 439-61.
- Barnes, G. R., et al., 2005. Predicting the duration of ocular pursuit in humans. *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Experimentation cerebrale*. 160, 10-21.
- Basso, G., et al., 1996. Time perception in a neglected space. *Neuroreport*. 7, 2111-4.
- Baudouin, A., et al., 2004. Age-related cognitive slowing: the role of spontaneous tempo and processing speed. *Experimental aging research*. 30, 225-39.
- Bengtsson, S. L., et al., 2005. Effector-independent voluntary timing: behavioural and neuroimaging evidence. *The European journal of neuroscience*. 22, 3255-65.
- Braus, D. F., 2002. [Temporal perception and organisation, neuronal synchronisation and schizophrenia]. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie*. 70, 591-600.
- Brown, S. W., 1997. Attentional resources in timing: interference effects in concurrent temporal and nontemporal working memory tasks. *Perception & psychophysics*. 59, 1118-40.
- Brown, S. W., Boltz, M. G., 2002. Attentional processes in time perception: effects of mental workload and event structure. *Journal of experimental psychology. Human perception and performance*. 28, 600-15.
- Bueti, D., et al., 2008a. Sensory and association cortex in time perception. *Journal of cognitive neuroscience*. 20, 1054-62.
- Bueti, D., et al., 2008b. The role of superior temporal cortex in auditory timing. *PloS one*. 3, e2481.
- Bueti, D., Walsh, V., 2010. Memory for time distinguishes between perception and action. *Perception*. 39, 81-90.
- Bueti, D., et al., 2008c. Different brain circuits underlie motor and perceptual representations of temporal intervals. *Journal of cognitive neuroscience*. 20, 204-14.
- Buhusi, C. V., Meck, W. H., 2002. Differential effects of methamphetamine and haloperidol on the control of an internal clock. *Behavioral neuroscience*. 116, 291-7.
- Cappon, D., Banks, R., 1969. Orientational perception. IV. Time and length perception in depersonalized and derealized patients and controls under positive feedback conditions. *The American journal of psychiatry*. 125, 1214-7.

- Collyer, C. E., et al., 1994. Preferred rates of repetitive tapping and categorical time production. *Perception & psychophysics*. 55, 443-53.
- Constantinidis, C., et al., 2002. A role for inhibition in shaping the temporal flow of information in prefrontal cortex. *Nature neuroscience*. 5, 175-80.
- Coull, J., Nobre, A., 2008. Dissociating explicit timing from temporal expectation with fMRI. *Current opinion in neurobiology*. 18, 137-44.
- Coull, J. T., Nobre, A. C., 1998. Where and when to pay attention: the neural systems for directing attention to spatial locations and to time intervals as revealed by both PET and fMRI. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 18, 7426-35.
- Coull, J. T., et al., 2004. Functional anatomy of the attentional modulation of time estimation. *Science*. 303, 1506-8.
- Craig, A. D., 2009. Emotional moments across time: a possible neural basis for time perception in the anterior insula. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 364, 1933-42.
- Crystal, J. D., 2001. Nonlinear time perception. *Behavioural processes*. 55, 35-49.
- Crystal, J. D., et al., 1997. Systematic nonlinearities in the memory representation of time. *Journal of experimental psychology. Animal behavior processes*. 23, 267-82.
- Crystal, J. D., et al., 2003. Cannabinoid modulation of sensitivity to time. *Behavioural brain research*. 144, 57-66.
- Daum, I., et al., 1993. Classical conditioning after cerebellar lesions in humans. *Behavioral neuroscience*. 107, 748-56.
- Davalos, D. B., et al., 2002. Deficits in auditory and visual temporal perception in schizophrenia. *Cognitive neuropsychiatry*. 7, 273-82.
- Davalos, D. B., et al., 2003. Effects of interval duration on temporal processing in schizophrenia. *Brain and cognition*. 52, 295-301.
- Davalos, D. B., et al., 2011. Temporal processing in schizophrenia: effects of task-difficulty on behavioral discrimination and neuronal responses. *Schizophrenia research*. 127, 123-30.
- Del Olmo, M. F., et al., 2007. Role of the cerebellum in externally paced rhythmic finger movements. *Journal of neurophysiology*. 98, 145-52.
- Dreher, J. C., et al., 2002. The roles of timing and task order during task switching. *NeuroImage*. 17, 95-109.
- Droit-Volet, S., Gil, S., 2009. The time-emotion paradox. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 364, 1943-53.
- Droit-Volet, S., Meck, W. H., 2007. How emotions colour our perception of time. *Trends in cognitive sciences*. 11, 504-13.
- Eagleman, D. M., 2004. Neuroscience. The where and when of intention. *Science*. 303, 1144-6.
- Eagleman, D. M., Holcombe, A. O., 2002. Causality and the perception of time. *Trends in cognitive sciences*. 6, 323-325.
- Eagleman, D. M., Pariyadath, V., 2009. Is subjective duration a signature of coding efficiency? *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 364, 1841-51.
- Eagleman, D. M., et al., 2005. Time and the brain: how subjective time relates to neural time. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 25, 10369-71.

- Elsinger, C. L., et al., 2003. Neural basis for impaired time reproduction in Parkinson's disease: an fMRI study. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS*. 9, 1088-98.
- Elvevag, B., et al., 2000. Memory for temporal order in patients with schizophrenia. *Schizophrenia research*. 46, 187-93.
- Elvevag, B., et al., 2003. Duration judgements in patients with schizophrenia. *Psychological medicine*. 33, 1249-61.
- Field, D. T., Wann, J. P., 2005. Perceiving time to collision activates the sensorimotor cortex. *Current biology : CB*. 15, 453-8.
- Fischer, R., Mead, E. L., 1966. Time contraction and psychomotor performance produced by "Psilocybin". *Nature*. 209, 433-4.
- Fraisse, P., 1984. Perception and estimation of time. *Annual review of psychology*. 35, 1-36.
- Freeman, A. M., 3rd, Melges, F. T., 1977. Depersonalization and temporal disintegration in acute mental illness. *The American journal of psychiatry*. 134, 679-81.
- Friston, K. J., et al., 1995. Analysis of fMRI time-series revisited. *NeuroImage*. 2, 45-53.
- Friston, K. J., et al., 1996. Movement-related effects in fMRI time-series. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*. 35, 346-55.
- Geiser, E., et al., 2008. The neural correlate of speech rhythm as evidenced by metrical speech processing. *Journal of cognitive neuroscience*. 20, 541-52.
- Gibbon, J., et al., 1997. Toward a neurobiology of temporal cognition: advances and challenges. *Current opinion in neurobiology*. 7, 170-84.
- Gil, S., et al., 2007. Anger and time perception in children. *Emotion*. 7, 219-25.
- Goldstone, S., Lhamon, W. T., 1974. Studies of auditory-visual differences in human time judgment. 1. Sounds are judged longer than lights. *Perceptual and motor skills*. 39, 63-82.
- Grondin, S., 2010. Timing and time perception: a review of recent behavioral and neuroscience findings and theoretical directions. *Attention, perception & psychophysics*. 72, 561-82.
- Harrington, D. L., et al., 2004. Neural representation of interval encoding and decision making. *Brain research. Cognitive brain research*. 21, 193-205.
- Harrington, D. L., et al., 1998a. Temporal processing in the basal ganglia. *Neuropsychology*. 12, 3-12.
- Harrington, D. L., et al., 1998b. Cortical networks underlying mechanisms of time perception. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 18, 1085-95.
- Himpel, S., et al., 2009. Duration discrimination in the range of milliseconds and seconds in children with ADHD and their unaffected siblings. *Psychological medicine*. 39, 1745-51.
- Hinton, S. C., Meck, W. H., 2004. Frontal-striatal circuitry activated by human peak-interval timing in the supra-seconds range. *Brain research. Cognitive brain research*. 21, 171-82.
- Hinton, S. C., et al., 2007. Motor timing variability increases in preclinical Huntington's disease patients as estimated onset of motor symptoms approaches. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS*. 13, 539-43.
- Holubar, J., 1958. [Electroencephalographic manifestations of cutaneous galvanic reflex in man]. *Ceskoslovenska fysiologie / Ustredni ustav biologicky*. 7, 179-80.
- Holubar, J., 1959. [Induced EEG rhythms and time sense]. *Ceskoslovenska fysiologie / Ustredni ustav biologicky*. 8, 197.
- Huang, Y. Z., et al., 2005. Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron*. 45, 201-6.

- Hufnagel, A., Elger, C. E., 1991. Responses of the epileptic focus to transcranial magnetic stimulation. *Electroencephalography and clinical neurophysiology. Supplement.* 43, 86-99.
- Chen, R., et al., 1997a. Depression of motor cortex excitability by low-frequency transcranial magnetic stimulation. *Neurology.* 48, 1398-403.
- Chen, R., et al., 1997b. Safety of different inter-train intervals for repetitive transcranial magnetic stimulation and recommendations for safe ranges of stimulation parameters. *Electroencephalography and clinical neurophysiology.* 105, 415-21.
- Church, R. M., Broadbent, H. A., 1990. Alternative representations of time, number, and rate. *Cognition.* 37, 55-81.
- Ivry, R. B., Spencer, R. M., 2004. The neural representation of time. *Current opinion in neurobiology.* 14, 225-32.
- Jahanshahi, M., et al., 2006. The substantia nigra pars compacta and temporal processing. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience.* 26, 12266-73.
- Janssen, P., Shadlen, M. N., 2005. A representation of the hazard rate of elapsed time in macaque area LIP. *Nature neuroscience.* 8, 234-41.
- Jazayeri, M., Shadlen, M. N., 2010. Temporal context calibrates interval timing. *Nature neuroscience.* 13, 1020-6.
- Jones, C. R., Jahanshahi, M., 2009. The substantia nigra, the basal ganglia, dopamine and temporal processing. *Journal of neural transmission. Supplementum.* 161-71.
- Jones, C. R., et al., 2008. Basal ganglia, dopamine and temporal processing: performance on three timing tasks on and off medication in Parkinson's disease. *Brain and cognition.* 68, 30-41.
- Jones, C. R., et al., 2004. The right dorsolateral prefrontal cortex is essential in time reproduction: an investigation with repetitive transcranial magnetic stimulation. *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Experimentation cerebrale.* 158, 366-72.
- Jones, M. R., Boltz, M., 1989. DYNAMIC ATTENDING AND RESPONSES TO TIME. *Psychological review.* 96, 459-491.
- Jueptner, M., et al., 1995. Localization of a cerebellar timing process using PET. *Neurology.* 45, 1540-5.
- Kagerer, F. A., et al., 2002. Cortical involvement in temporal reproduction: evidence for differential roles of the hemispheres. *Neuropsychologia.* 40, 357-66.
- Karmarkar, U. R., Buonomano, D. V., 2007. Timing in the absence of clocks: encoding time in neural network states. *Neuron.* 53, 427-38.
- Keele, S. W., Ivry, R., 1990. Does the cerebellum provide a common computation for diverse tasks? A timing hypothesis. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 608, 179-207; discussion 207-11.
- Kingstone, A., Klein, R. M., 1993. What are human express saccades? *Perception & psychophysics.* 54, 260-73.
- Koekkoek, S. K., et al., 2003. Cerebellar LTD and learning-dependent timing of conditioned eyelid responses. *Science.* 301, 1736-9.
- Koch, G., et al., 2004a. Subthalamic deep brain stimulation improves time perception in Parkinson's disease. *Neuroreport.* 15, 1071-3.
- Koch, G., et al., 2005. Memory for time intervals is impaired in left hemi-Parkinson patients. *Neuropsychologia.* 43, 1163-7.
- Koch, G., et al., 2008. Impaired reproduction of second but not millisecond time intervals in Parkinson's disease. *Neuropsychologia.* 46, 1305-13.

- Koch, G., et al., 2004b. High-frequency rTMS improves time perception in Parkinson disease. *Neurology*. 63, 2405-6.
- Koch, G., et al., 2009. Neural networks engaged in milliseconds and seconds time processing: evidence from transcranial magnetic stimulation and patients with cortical or subcortical dysfunction. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 364, 1907-18.
- Koch, G., et al., 2003. Underestimation of time perception after repetitive transcranial magnetic stimulation. *Neurology*. 60, 1844-6.
- Koch, G., et al., 2007. Repetitive TMS of cerebellum interferes with millisecond time processing. *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Experimentation cerebrale*. 179, 291-9.
- Kotani, S., et al., 2003. Purkinje cell activity during learning a new timing in classical eyeblink conditioning. *Brain research*. 994, 193-202.
- Lasley, D. J., Cohn, T., 1981. Detection of a luminance increment: effect of temporal uncertainty. *J Opt Soc Am*. 71, 845-50.
- Lavoie, P., Grondin, S., 2004. Information processing limitations as revealed by temporal discrimination. *Brain and cognition*. 54, 198-200.
- Lee, K. H., et al., 2009. Time perception and its neuropsychological correlates in patients with schizophrenia and in healthy volunteers. *Psychiatry research*. 166, 174-83.
- Lee, K. H., et al., 2007. The role of the cerebellum in subsecond time perception: evidence from repetitive transcranial magnetic stimulation. *Journal of cognitive neuroscience*. 19, 147-57.
- Leon, M. I., Shadlen, M. N., 2003. Representation of time by neurons in the posterior parietal cortex of the macaque. *Neuron*. 38, 317-27.
- Lewis, P. A., Miall, R. C., 2003. Distinct systems for automatic and cognitively controlled time measurement: evidence from neuroimaging. *Current opinion in neurobiology*. 13, 250-5.
- Lieving, L. M., et al., 2006. Effects of marijuana on temporal discriminations in humans. *Behav Pharmacol*. 17, 173-83.
- Livesey, A. C., et al., 2007. Time perception: manipulation of task difficulty dissociates clock functions from other cognitive demands. *Neuropsychologia*. 45, 321-31.
- Lustig, C., et al., 2005. Not "just" a coincidence: frontal-striatal interactions in working memory and interval timing. *Memory*. 13, 441-8.
- Macar, F., Vidal, F., 2009. Timing processes: an outline of behavioural and neural indices not systematically considered in timing models. *Canadian journal of experimental psychology = Revue canadienne de psychologie experimentale*. 63, 227-39.
- Macar, F., et al., 1999. The supplementary motor area in motor and sensory timing: evidence from slow brain potential changes. *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Experimentation cerebrale*. 125, 271-80.
- MacDougall, H. G., Moore, S. T., 2005. Marching to the beat of the same drummer: the spontaneous tempo of human locomotion. *Journal of applied physiology*. 99, 1164-73.
- Malapani, C., et al., 2002. Separating storage from retrieval dysfunction of temporal memory in Parkinson's disease. *Journal of cognitive neuroscience*. 14, 311-22.
- Malapani, C., et al., 1998a. Cerebellar dysfunctions of temporal processing in the seconds range in humans. *Neuroreport*. 9, 3907-12.
- Malapani, C., et al., 1998b. Coupled temporal memories in Parkinson's disease: a dopamine-related dysfunction. *Journal of cognitive neuroscience*. 10, 316-31.

- Mangels, J. A., et al., 1998. Dissociable contributions of the prefrontal and neocerebellar cortex to time perception. *Brain research. Cognitive brain research.* 7, 15-39.
- Matell, M. S., Meck, W. H., 2004. Cortico-striatal circuits and interval timing: coincidence detection of oscillatory processes. *Brain research. Cognitive brain research.* 21, 139-70.
- Matell, M. S., et al., 2003. Interval timing and the encoding of signal duration by ensembles of cortical and striatal neurons. *Behavioral neuroscience.* 117, 760-73.
- Mathew, R. J., et al., 1993. Depersonalization after marijuana smoking. *Biological psychiatry.* 33, 431-41.
- McAuley, J. D., Jones, M. R., 2003. Modeling effects of rhythmic context on perceived duration: a comparison of interval and entrainment approaches to short-interval timing. *Journal of experimental psychology. Human perception and performance.* 29, 1102-25.
- Meaux, J. B., Chelonis, J. J., 2003. Time perception differences in children with and without ADHD. *Journal of pediatric health care : official publication of National Association of Pediatric Nurse Associates & Practitioners.* 17, 64-71.
- Meck, W. H., 1984. Attentional bias between modalities: effect on the internal clock, memory, and decision stages used in animal time discrimination. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 423, 528-41.
- Meck, W. H., 1996. Neuropharmacology of timing and time perception. *Brain research. Cognitive brain research.* 3, 227-42.
- Meck, W. H., 1998. Neuropharmacology of timing and time perception. *Brain research. Cognitive brain research.* 6, 233.
- Meck, W. H., Benson, A. M., 2002. Dissecting the brain's internal clock: how frontal-striatal circuitry keeps time and shifts attention. *Brain and cognition.* 48, 195-211.
- Meck, W. H., et al., 1987. Nucleus basalis magnocellularis and medial septal area lesions differentially impair temporal memory. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience.* 7, 3505-11.
- Meck, W. H., et al., 2008. Cortico-striatal representation of time in animals and humans. *Current opinion in neurobiology.* 18, 145-52.
- Melges, F. T., et al., 1970. Temporal disintegration and depersonalization during marihuana intoxication. *Archives of general psychiatry.* 23, 204-10.
- Merchant, H., et al., 2008. Interval timing and Parkinson's disease: heterogeneity in temporal performance. *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Experimentation cerebrale.* 184, 233-48.
- Mita, A., et al., 2009. Interval time coding by neurons in the presupplementary and supplementary motor areas. *Nature neuroscience.* 12, 502-7.
- Mitrani, L., et al., 1977. Identification of short time intervals under LSD25 and mescaline. *Activitas nervosa superior.* 19, 103-4.
- Monfort, V., Pouthas, V., 2003. Effects of working memory demands on frontal slow waves in time-interval reproduction tasks in humans. *Neuroscience letters.* 343, 195-9.
- Morrone, M. C., et al., 2005. Saccadic eye movements cause compression of time as well as space. *Nature neuroscience.* 8, 950-4.
- Nenadic, I., et al., 2003. Processing of temporal information and the basal ganglia: new evidence from fMRI. *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Experimentation cerebrale.* 148, 238-46.

- Niki, H., Watanabe, M., 1979. Prefrontal and cingulate unit activity during timing behavior in the monkey. *Brain research*. 171, 213-24.
- Nobre, A., et al., 2007. The hazards of time. *Current opinion in neurobiology*. 17, 465-70.
- O'Boyle, D. J., et al., 1996. The accuracy and precision of timing of self-paced, repetitive movements in subjects with Parkinson's disease. *Brain : a journal of neurology*. 119 (Pt 1), 51-70.
- O'Leary, D. S., et al., 2003. Marijuana alters the human cerebellar clock. *Neuroreport*. 14, 1145-51.
- O'Reilly, J. X., et al., 2008. The cerebellum predicts the timing of perceptual events. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 28, 2252-60.
- Oliveri, M., et al., 2009. Representation of time intervals in the right posterior parietal cortex: implications for a mental time line. *NeuroImage*. 46, 1173-9.
- Oliveri, M., et al., 2008. Perceiving numbers alters time perception. *Neuroscience letters*. 438, 308-11.
- Pastor, M. A., et al., 1992. Time estimation and reproduction is abnormal in Parkinson's disease. *Brain : a journal of neurology*. 115 Pt 1, 211-25.
- Pattij, T., et al., 2008. Cannabinoid modulation of executive functions. *Eur J Pharmacol*. 585, 458-63.
- Penney, T. B., et al., 2005. Interval-timing deficits in individuals at high risk for schizophrenia. *Brain and cognition*. 58, 109-18.
- Perbal, S., et al., 2005. Effects of internal clock and memory disorders on duration reproductions and duration productions in patients with Parkinson's disease. *Brain and cognition*. 58, 35-48.
- Pfeuty, M., et al., 2003. When time is up: CNV time course differentiates the roles of the hemispheres in the discrimination of short tone durations. *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Experimentation cerebrale*. 151, 372-9.
- Plummer, C., Humphrey, N., 2009. Time perception in children with ADHD: the effects of task modality and duration. *Child neuropsychology : a journal on normal and abnormal development in childhood and adolescence*. 15, 147-62.
- Pollok, B., et al., 2008a. Evidence for anticipatory motor control within a cerebello-diencephalic-parietal network. *Journal of cognitive neuroscience*. 20, 828-40.
- Pollok, B., et al., 2008b. The effect of rTMS over left and right dorsolateral premotor cortex on movement timing of either hand. *The European journal of neuroscience*. 27, 757-64.
- Poppel, E., 2004. Lost in time: a historical frame, elementary processing units and the 3-second window. *Acta neurobiologiae experimentalis*. 64, 295-301.
- Pouthas, V., et al., 2000. ERPs and PET analysis of time perception: spatial and temporal brain mapping during visual discrimination tasks. *Human brain mapping*. 10, 49-60.
- Rakitin, B. C., et al., 2006. Single-dose levodopa administration and aging independently disrupt time production. *Journal of cognitive neuroscience*. 18, 376-87.
- Rammsayer, T., 1989. Dopaminergic and serotonergic influence on duration discrimination and vigilance. *Pharmacopsychiatry*. 22 Suppl 1, 39-43.
- Rammsayer, T., Classen, W., 1997. Impaired temporal discrimination in Parkinson's disease: temporal processing of brief durations as an indicator of degeneration of dopaminergic neurons in the basal ganglia. *The International journal of neuroscience*. 91, 45-55.
- Rammsayer, T. H., 1993. On dopaminergic modulation of temporal information processing. *Biological psychology*. 36, 209-22.
- Rammsayer, T. H., Lima, S. D., 1991. Duration discrimination of filled and empty auditory intervals: cognitive and perceptual factors. *Perception & psychophysics*. 50, 565-74.

- Rao, S. M., et al., 2001. The evolution of brain activation during temporal processing. *Nature neuroscience*. 4, 317-23.
- Renoult, L., et al., 2006. Time is a rubberband: neuronal activity in monkey motor cortex in relation to time estimation. *The European journal of neuroscience*. 23, 3098-108.
- Riehle, A., et al., 1997. Spike synchronization and rate modulation differentially involved in motor cortical function. *Science*. 278, 1950-3.
- Rubia, K., et al., 2009. Impulsiveness as a timing disturbance: neurocognitive abnormalities in attention-deficit hyperactivity disorder during temporal processes and normalization with methylphenidate. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 364, 1919-31.
- Rubia, K., Smith, A., 2004. The neural correlates of cognitive time management: a review. *Acta neurobiologiae experimentalis*. 64, 329-40.
- Sakai, K., et al., 2000. What and when: parallel and convergent processing in motor control. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 20, 2691-700.
- Sawamura, H., et al., 2002. Numerical representation for action in the parietal cortex of the monkey. *Nature*. 415, 918-22.
- Schubotz, R. I., 2007. Prediction of external events with our motor system: towards a new framework. *Trends in cognitive sciences*. 11, 211-8.
- Schubotz, R. I., et al., 2000. Time perception and motor timing: a common cortical and subcortical basis revealed by fMRI. *NeuroImage*. 11, 1-12.
- Simeon, D., et al., 2007. Temporal disintegration in depersonalization disorder. *Journal of trauma & dissociation : the official journal of the International Society for the Study of Dissociation*. 8, 11-24.
- Smith, A., et al., 2003. A right hemispheric frontocerebellar network for time discrimination of several hundreds of milliseconds. *NeuroImage*. 20, 344-50.
- Smith, A., et al., 2002. Evidence for a pure time perception deficit in children with ADHD. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*. 43, 529-42.
- Smith, A. B., et al., 2008. Reduced activation in right lateral prefrontal cortex and anterior cingulate gyrus in medication-naïve adolescents with attention deficit hyperactivity disorder during time discrimination. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*. 49, 977-85.
- Spencer, R. M., Ivry, R. B., 2005. Comparison of patients with Parkinson's disease or cerebellar lesions in the production of periodic movements involving event-based or emergent timing. *Brain and cognition*. 58, 84-93.
- Staddon, J. E., Higa, J. J., 1999. Time and memory: towards a pacemaker-free theory of interval timing. *Journal of the experimental analysis of behavior*. 71, 215-51.
- Stetson, C., et al., 2007. Does time really slow down during a frightening event? *PloS one*. 2, e1295.
- Strafella, A. P., et al., 2001. Repetitive transcranial magnetic stimulation of the human prefrontal cortex induces dopamine release in the caudate nucleus. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 21, RC157.
- Svensson, P., et al., 2010. Effect of conditioned stimulus parameters on timing of conditioned Purkinje cell responses. *Journal of neurophysiology*. 103, 1329-36.
- Tenckhoff, A., et al., 2002. [Altered perception of temporal relations in schizophrenic psychoses]. *Der Nervenarzt*. 73, 428-33.
- Thompson, R. F., 1990. Neural mechanisms of classical conditioning in mammals. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 329, 161-70.

- Tinklenberg, J. R., et al., 1972. Marihuana and alcohol, Time production and memory functions. *Archives of general psychiatry*. 27, 812-5.
- Topka, H., et al., 1993. Deficit in classical conditioning in patients with cerebellar degeneration. *Brain : a journal of neurology*. 116 (Pt 4), 961-9.
- Toplak, M. E., Tannock, R., 2005. Time perception: modality and duration effects in attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). *Journal of abnormal child psychology*. 33, 639-54.
- Treisman, M., 1963. Temporal discrimination and the indifference interval. Implications for a model of the "internal clock". *Psychological monographs*. 77, 1-31.
- Tse, P. U., et al., 2004. Attention and the subjective expansion of time. *Perception & psychophysics*. 66, 1171-89.
- Ursano, R. J., et al., 1999. Acute and chronic posttraumatic stress disorder in motor vehicle accident victims. *The American journal of psychiatry*. 156, 589-95.
- van Wassenhove, V., et al., 2008. Distortions of subjective time perception within and across senses. *PloS one*. 3, e1437.
- Vanneste, S., et al., 2001. Temporal control of rhythmic performance: a comparison between young and old adults. *Experimental aging research*. 27, 83-102.
- Vicario, C. M., et al., 2008. Relativistic compression and expansion of experiential time in the left and right space. *PloS one*. 3, e1716.
- Volz, H. P., et al., 2001. Time estimation in schizophrenia: an fMRI study at adjusted levels of difficulty. *Neuroreport*. 12, 313-6.
- Wackermann, J., 2007. Inner and outer horizons of time experience. *The Spanish journal of psychology*. 10, 20-32.
- Wackermann, J., Ehm, W., 2006. The dual klepsydra model of internal time representation and time reproduction. *Journal of theoretical biology*. 239, 482-93.
- Wackermann, J., et al., 2008. Effects of varied doses of psilocybin on time interval reproduction in human subjects. *Neuroscience letters*. 435, 51-5.
- Walsh, V., 2003. A theory of magnitude: common cortical metrics of time, space and quantity. *Trends in cognitive sciences*. 7, 483-8.
- Wassermann, E. M., et al., 1998. Crossed reduction of human motor cortex excitability by 1-Hz transcranial magnetic stimulation. *Neuroscience letters*. 250, 141-4.
- Wehrhahn, C., Westheimer, G., 1993. Temporal asynchrony interferes with vernier acuity. *Visual neuroscience*. 10, 13-9.
- Wiener, M., et al., 2010. The image of time: a voxel-wise meta-analysis. *NeuroImage*. 49, 1728-40.
- Wittmann, M., et al., 2007. Effects of psilocybin on time perception and temporal control of behaviour in humans. *Journal of psychopharmacology*. 21, 50-64.
- Wittmann, M., et al., 2010. The neural substrates of subjective time dilation. *Frontiers in human neuroscience*. 4, 2.
- Yang, B., et al., 2007. Time perception deficit in children with ADHD. *Brain research*. 1170, 90-6.
- Yarrow, K., et al., 2001. Illusory perceptions of space and time preserve cross-saccadic perceptual continuity. *Nature*. 414, 302-5.
- Zakay, D., 1993. Time estimation methods--do they influence prospective duration estimates? *Perception*. 22, 91-101.
- Zakay, D., Shub, J., 1998. Concurrent duration production as a workload measure. *Ergonomics*. 41, 1115-28.

8. Příloha I – seznam publikací

(souhrnný IF 14.425)

Původní práce související s dizertační prací:

1. **Dusek P**, Vymazal J, Ruzicka E, Wackermann J, Jech R, Muller K. Abnormal activity in the precuneus during time perception in Parkinson's disease: an fMRI study. Plos One - **v recenzním řízení**
2. **Dusek P**, Jech R, Havrankova P, Wackermann J, Vymazal J. Theta-burst transcranial magnetic stimulation of the supplementary motor area decreases variability of temporal estimates. Přijato v Neuro Endocrinol Lett. **IF = 1.047**
3. Jech R, **Dusek P**, Wackermann J, Vymazal J. Cumulative blood oxygenation-level-dependent signal changes support the 'time accumulator' hypothesis. Neuroreport. 2005 Sep 8;16(13):1467-1471. **IF = 1.995**

Ostatní původní práce:

1. Jech R, Müller K, Urgošik D, Sieger T, Holiga Š, Růžicka F, **Dušek P**, Havráňková P, Vymazal J, Růžicka E. Acute effects of electrode penetration into the subthalamic nucleus on tapping task in Parkinson's disease: a functional MRI study in the absence of DBS. Human Brain Mapping – **v recenzním řízení**
2. Serranova T, Jech R, **Dusek P**, Sieger T, Ruzicka F, Urgosik D, Ruzicka E. Subthalamic nucleus stimulation affects incentive salience attribution in Parkinson's disease. Přijato v Movement Disord. **IF=4.014**
3. Burgetová A, Seidl Z, Mašek M, **Dušek P**, Hostaša P, Němcová J, Vaněčková M. Spontaneous Regression of Sequestered Lumbar Disc Herniation - Three Case Reports. Čes a Slov Neurol Neurochir. 2010;73(6):721-4. **IF = 0.246**
4. Havrankova P, Jech R, Walker ND, Operto G, Tauchmanova J, Vymazal J, **Dusek P**, Hromcik M, Ruzicka E. Repetitive TMS of the somatosensory cortex improves writer's cramp and enhances cortical activity. Neuro Endocrinol Lett. 2010;31(1):73-86. **IF = 1.047**
5. **Dusek P**, Buskova J, Ruzicka E, Majerova V, Srp A, Jech R, et al. Effects of ropinirole prolonged-release on sleep disturbances and daytime sleepiness in Parkinson disease. Clin Neuropharmacol. 2010 Jul;33(4):186-190. **IF = 2.349**
6. Šonka K, Salvat A, Havráňková P, **Dušek P**, Volná J, Pretl M. Úspěšné použití jediné otázky pro skrínink syndromu neklidných nohou v ČR. Čes a Slov Neurol Neurochir. 2007;70:685-6. **IF = 0.045**
7. Novakova L, Ruzicka E, Jech R, Serranova T, **Dusek P**, Urgosik D. Increase in body weight is a non-motor side effect of deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease. Neuro Endocrinol Lett. 2007;28:21-5. **IF = 1.005**

8. Jech R, Růžička E, Urgošík D, Serranová T, Volfová M, Nováková O, Roth J, **Dušek P**, Mečíř P. Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus affects resting EEG and visual evoked potentials in Parkinson's disease. Clin Neurophysiol. 2006 May;117(5):1017-28. **IF = 2.64**
9. Růžička E, Urgošík D, Jech R, Serranová T, Volfová M, Roth J, Vymazal J, Mečíř P, Nováková O, Ulmanová O, Brožová H, **Dušek P**, Špačková N, Liščák R, Vladyka V. Hluboká mozková stimulace v léčbě parkinsonovy nemoci a třesu: Pražská zkušenost 1998-2003. Čes a Slov Neurol Neurochir. 2004;67(6):423-431. **IF = 0.037**

Ostatní práce:

1. **Dušek P**, Růžička E. Neurologická forma Wilsonovy nemoci. Postgraduální medicína. 2011-05: 472-478.
2. **Dušek P.**, Roth J. Současná strategie léčby Parkinsonovy nemoci. Remedia. 2006; 4, 382-7.
3. Jech R., **Dušek P.**, Wackermann J., Vymazal J. Vnímání času ve funkčním zobrazení mozku. Čas Lék Čes 2005, č.10, s.657-716.
4. **Dusek P**, Jech R, Wackermann J, Vymazal J. Effects of dopaminergic therapy on time perception in Parkinson's disease: An event-related fMRI study. In: Fechner day 2005 proceedings. 2005. Traverse city: International society for psychophysics.
5. Jech R, **Dusek P**, Wackermann J. FMRI correlates of time perception. In: Fechner day 2004 proceedings. 2004. Coimbra: International society for psychophysics.

9. Příloha II – publikace in extenso

1. Dusek P, Vymazal J, Ruzicka E, Wackermann J, Jech R, Muller K. Abnormal activity in the precuneus during time perception in Parkinson's disease: an fMRI study.
2. Dusek P, Jech R, Havrankova P, Wackermann J, Vymazal J. Theta-burst transcranial magnetic stimulation of the supplementary motor area decreases variability of temporal estimates.
3. Jech R, Dusek P, Wackermann J, Vymazal J. Cumulative blood oxygenation-level-dependent signal changes support the 'time accumulator' hypothesis.

Cumulative blood oxygenation-level-dependent signal changes support the 'time accumulator' hypothesis

Robert Jech,^{1,CA} Petr Dušek,¹ Jiří Wackermann³ and Josef Vymazal²

¹Department of Neurology, 1st Medical Faculty of Charles University, Kateřinská 30, I20 00 Prague; ²Na Homolce Hospital, Roentgenova 37/2, I50 00 Prague, Czech Republic; ³Institute for Frontier Areas of Psychology, Wilhelmstr. 3a, 79098 Freiburg i. Br., Germany

^{CA}Corresponding Author: panther@tremor.anet.cz

Received 29 May 2005; accepted 15 June 2005

We studied time-related changes in the blood oxygenation-level-dependent signal during a time reproduction task. Nine healthy study participants retained and reproduced stimuli of varying durations in the multi-second range. During the encoding phase of the task, activity in the left dorsolateral prefrontal cortex inversely correlated with the interval duration, while an adjacent region in the dorsolateral prefrontal cortex showed positive correlation with duration in the reproduction phase. Cumulative signal

increase during the reproduction phase, as found in the primary motor and supplementary motor areas, may also reflect the time-sensitive behavior. Signal accumulation in the right caudate nucleus is in agreement with presumed role of basal ganglia in time perception. These results support the 'time accumulator' hypothesis. *NeuroReport* 16:1467–1471 © 2005 Lippincott Williams & Wilkins.

Key words: Prefrontal cortex; Time perception; Time reproduction; Working memory

INTRODUCTION

Many theories of time perception assume an 'internal clock' consisting of a pulse generator (pacemaker) and pulse counter (accumulator) [1], where the accumulated pulse count serves as an internal measure of time elapsed. The time accumulator can be considered a specific type of working memory [2], in which time-related information is stored. The momentary state of the accumulator may be compared with remembered reference values, which allows a participant to reproduce temporal durations. The principle of the time accumulator is common to other models of time perception, even if they do not share the concept of a 'ticking clock' [3], because the spontaneously charging and/or discharging accumulator can function as a time-keeper itself [4–6].

Time perception has been studied in several imaging studies [7]. Besides the block design of the functional magnetic resonance imaging (fMRI) with alternation of the active and passive phases of the task, the event-related design [8] allowed one to visualize brain areas involved during each phase of the task. Many cortical areas involved in various aspects of time perception were described [9]; however, the results do not allow one to reliably distinguish areas truly involved in time perception from those involved in other, parallel processes, accompanying any executive task.

Parametric analysis, designed to search dependence between the level of the accumulated blood oxygenation-level-dependent (BOLD) signal and the temporal duration involved, is free from disadvantages inherent to conventional event-related design. The parametric approach has

been successfully used in a time discrimination task to study the quantitative effect of attention allocation with regard to the temporal and visual aspects of a cognitive task [10]; to identify working memory load-dependent areas of the brain [11–13]; and to detect time-sensitive areas in a simple contrast design, using long and short intervals as two conditions [14].

In our study, we used a time reproduction task, with durations varied at several levels, combined with the parametric analysis, in a systematic search of the time accumulator, that is, those cortical areas where the BOLD signal covaries with the temporal duration perceived, provided the other processes, such as attention, decision-making and behavioral response, remain constant.

METHODS

Nine right-handed healthy volunteers (six men, three women; mean age 28 years, range 23–49 years) participated in the study. A signed, informed consent was obtained from all participants and the study was approved by the local ethics committee. Before the experimental session, the task was explained to the study participants and practiced off the magnetic resonance apparatus.

The task consisted of two phases: encoding and reproduction. During the encoding phase, participants had to retain the duration of a presented visual stimulus – a gray square with a centered red cross. The encoding interval was followed by a constant interstimulus interval (10 s), during which an indifferent stimulus (gray cross) was displayed. In the reproduction phase, participants had to reproduce the

retained duration by pressing a button with their right-hand finger. The reproduction phase started by presenting a gray square with a centered green cross, which was displayed until a time amounting to $1.5 \times$ duration of the encoding interval elapsed. Participants had to indicate the end of reproduction by the button press. If they failed to press the button by the end of the reproduction phase, this was considered as a missing response.

Each experimental session comprised 16 trials. In each trial, the duration of the encoding interval was selected pseudo-randomly out of a set of eight durations, 5.00, 5.95, 7.07, 8.41, 10.00, 11.89, 14.14 and 16.82 s (i.e. a geometric sequence $x_{i+1}=x_i 2^{1/4}$), and using each duration twice during the session. Participants were instructed to fixate centrally on the cross throughout the task and to avoid mental counting. Eight out of nine participants were given a random button press control task consisting of pressing the button once at any time during the reproduction phase (green cross/gray square).

fMRI was performed on a Siemens Symphony 1.5T apparatus, using the gradient echo-planar sequence (TR=2.9 s, TE=56 ms, FA=90°). A total of 260 dynamic volumes consisting of 25 continuous, 4-mm-thick axial slices were obtained during the task, and 140 dynamic volumes were obtained during the control task. For morphological imaging a conventional three-dimensional T1-weighted magnetization-prepared rapid acquisition gradient echo sequence with a slice thickness of 1.6 mm was used.

Statistical Parametric Mapping (SPM2, Wellcome Department of Cognitive Neurology, London, UK) was used for analysis. Motion artifacts were corrected using the least-squares method. Differences in slice acquisition time were corrected; all scans were spatially normalized into standardized stereotactic space (Montreal Neurological Institute coordinates), and smoothed with a 10-mm Gaussian filter to suppress residual interindividual differences. The group analysis was performed separately for the encoding and reproduction phases, using a general linear model for pooled data of all participants. The encoding phase was defined as a variable-duration event, indicated by appearance of a red cross. The reproduction phase was defined as the interval from appearance of the green cross until the participant's button press.

Each variable-duration event was represented by a curve convolved with the expected hemodynamic response function. While the functions for all the different encoding intervals varied identically in all participants, functions for the reproduction phase were constructed for each participant separately, according to individual variations of behavioral responses. To identify the BOLD signal cumulative changes related to elapsed time, each function representing encoding or reproduction event was multiplied by a weighting parameter, which was a logarithm of the actual encoded duration linearly transformed to the range from -1 (for the shortest duration, 5 s) to $+1$ (for the longest duration, 16.82 s). A similar procedure was used to modulate the functions from the control task, except that the parameter was a logarithm of the response time. A temporal cutoff point of 128 s was used to filter off low-frequency artifacts. The results of group analysis were visualized using a significance level of $p < 0.01$, corrected for the false discovery rate.

RESULTS

In the encoding phase, we found a negative correlation between the BOLD signal and the encoded duration in the left dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC), and in the right anterior cingulate (i.e. gradual decrease of the BOLD signal with increasing duration; see Fig. 1a and Table 1). No positive correlation between the BOLD signal and encoded duration was found in the encoding phase in any area.

In the reproduction phase, besides a decrease, cumulative changes in the BOLD signal were observed in numerous areas (Table 1). In the left hemisphere, a positive correlation between the BOLD signal and the duration of the reproduced interval was found in the DLPFC and the primary motor cortex (M1). Bilateral accumulation occurred in the supplementary motor area (SMA), with dominant activation on the left side. In the right hemisphere, cumulative activation was found solely in the caudate nucleus (Fig. 1b). Negative correlation between the BOLD signal and the reproduced duration was noted posteriorly, mainly in the right hemisphere: areas in the right superior parietal cortex, posterior portion of the temporal cortex and in the lateral part of the cerebellum. The most pronounced deactivation with increasing reproduced duration occurred on the medial surface of both parietal lobes in the area of the precuneus (Fig. 1c).

In the control task, no correlations between the time elapsed to button press and the level of the BOLD signal were found in any region.

DISCUSSION

Parametric analysis revealed correlation of the BOLD signal with the temporal duration in a number of regions. Interestingly, these changes differed between the encoding and reproduction phases, and had not the same localization

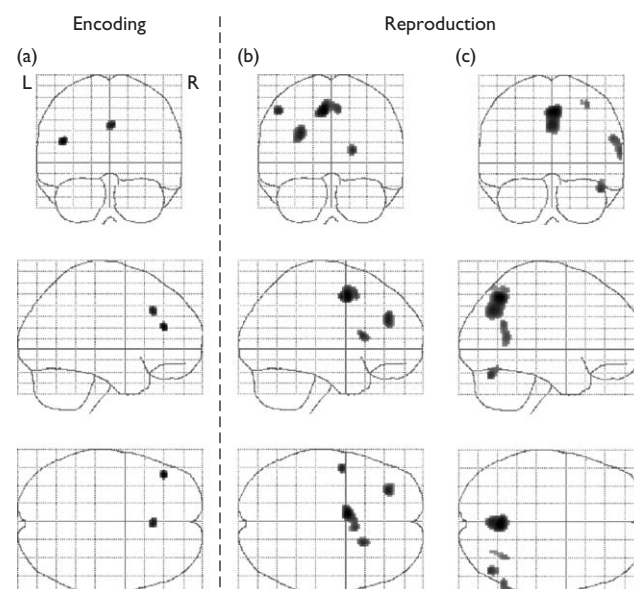


Fig. 1. Group analysis of cumulative blood oxygenation-level-dependent signal changes relative to varying duration of the time interval ($p < 0.01$, false discovery rate corrected). In the encoding phase, only a negative correlation was found (a), while in the reproduction phase, both positive (b) and negative (c) correlations were found.

Table 1. Results of parametric analysis of covariation of the blood oxygenation-level-dependent signal with encoded/reproduced temporal durations.

	Region	BA	Voxels	x	y	z	T	p (false discovery rate corrected, $p < 0.01$)
<i>Encoding phase – negative correlation:</i>								
Left middle frontal g.	DLPFC	9, 46	25	–44	36	20	5.14	0.009
Right cinguli g.		32	31	2	26	36	4.93	0.009
<i>Reproduction phase – positive correlation:</i>								
Left superior frontal s.	DLPFC	9	112	–28	40	28	4.91	0.003
Bilateral medial frontal g.	SMA	32	223	–8	2	48	5.45	0.002
Left precentral g.	MI	4, 6	33	–50	–4	48	4.88	0.003
Right caudate ncl.			46	20	16	12	4.73	0.004
<i>Reproduction phase – negative correlation:</i>								
Bilateral precuneus		7, 31	457	2	–62	48	5.80	0.0003
Right superior parietal lobule	SPC	7	29	32	–58	56	4.29	0.005
Right superior and middle temporal g.	PTC	22, 21	87	64	–56	12	4.55	0.002
Right cerebellum			54	46	–70	–24	4.80	0.001

(Fig. 1). Only in the left DLPFC were significant BOLD signal changes observed in both phases of the task: during encoding, the signal in the middle frontal gyrus continually decreased with increasing encoded duration, whereas during reproduction, the signal gradually accumulated in a neighboring area, at a distance of merely 10 mm, localized in the superior frontal sulcus (Fig. 2). We have no straightforward interpretation for this surprising finding. Possibly, the same cognitive processes are not engaged in both phases of the task. For example, during the encoding phase participants might estimate the time elapsed relative to the start of encoding (i.e. backward estimation) while in the reproduction phase they could estimate the time remaining to the button press (i.e. forward estimation). The time accumulator would thus be discharging in one phase, and charging in the other.

Involvement of the prefrontal cortex in time-related tasks has already been reported [7,9]. Most authors stressed importance of the right DLPFC [15], while some others observed bilateral [8] or left activation [14], as we did. Activation of the prefrontal cortex is often seen during executive tasks requiring attention and working memory (e.g. in the n-back task [11] and Sternberg task [12,13]). These tasks showed a correlation between the working memory load and the BOLD signal in the DLPFC bilaterally. Moreover, in the Sternberg task study, inverse deactivation was seen in the left DLPFC and anterior cingulate [13], similarly to our study. More difficult variants of the n-back task, and memory search with longer sets in the Sternberg task, require more time: the similarity of our and mentioned findings may thus be related to temporal aspects of the two tasks, or to the possibility that working memory for the verbal and temporal domains shares similar cortical areas. The anterior cingulate, likewise the DLPFC, is known to be involved in many executive tasks [16]. However, it is unclear why the duration-related deactivation should occur at the anterior cingulate during the encoding phase only.

Cumulative BOLD signal increase or decrease correlating with interval durations support the hypothesis of a time accumulator functioning as an integrator of temporal events [3]. Our findings recall the model based on climbing neuronal activity [4,5], or the 'dual klepsydra model' [6], based on two 'leaky integrators'.

Limitations of the parametric analysis we used are obvious: observed correlations need not reflect any causal relationship. However, our results were probably unaffected by visual perception, decision-making or motor response, as these processes should stay constant throughout the task. Fluctuating attention may not have been the cause either, because neither the rate of errors for each interval category nor the number of errors made during the task differed.

Physiological mechanisms possibly underlying a time accumulator are still poorly understood. Gradual increase of the BOLD signal in the left DLPFC might reflect increasing firing rate of certain neuronal populations; indeed, neurons showing gradually increasing firing rate during a delayed-response task were found in the DLPFC of monkeys [17]. A number of authors refer to the significance of SMA in time perception [18]. Its activation appears to be related to the degree of attention allocated to the temporal aspect of the task rather than to the motor or visual aspect [10]. We have observed time-related activation in the SMA, expressed by positive correlation of the BOLD signal with reproduced duration. Worth mentioning is the fact that time-related increase of firing rates was also described in the SMA of monkeys [19], and was noticeable solely when the animal was able to predict the instant of imperative stimulus presentation.

Not only accumulating but also decaying activity has been suggested to serve as a base for time keeping. Neurons in the DLPFC of monkeys are capable of inhibiting other neurons within a few hundred milliseconds [20]. This seems to support the idea of a discharging accumulator, in which inhibition spreads divergently to larger neuronal populations. A longer time interval would thus be associated with a smaller number of active neurons and, thereby, with a lower BOLD signal intensity. That was what we found in the encoding phase in the DLPFC and anterior cingulate. During reproduction, this decrease was found in the right precuneus and in a few areas of the right parietotemporal cortex. In the precuneus, there was a similar working memory load related to deactivation in the Sternberg task [13], or an inverse gradual deactivation relative to the growing memory bias in the time discrimination task [21]. We observed an inverse correlation during reproduction also in the cerebellum, a structure coresponsible for motor timing [22].

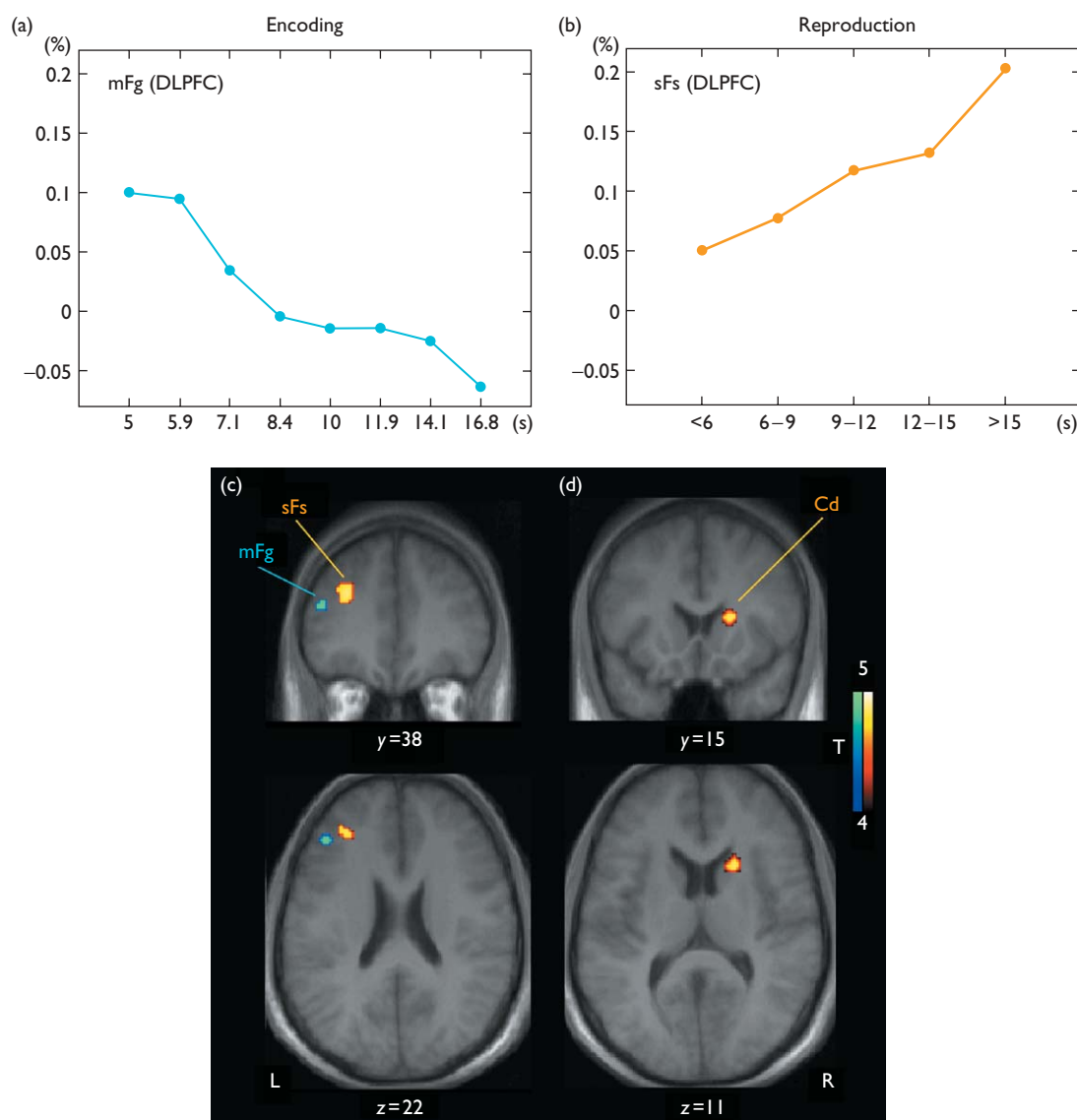


Fig. 2. Cumulative blood oxygenation-level-dependent signal changes reflecting variations during the encoded and reproduced durations. (a) Signal decrease with increasing encoded duration at the left middle frontal gyrus (mFg). (b) Signal increase with increasing reproduced duration at the left superior frontal sulcus (sFs). (c) Regions showing signal decrease during the encoding (mFg) and increase during the reproduction (sFs) phases located at the left dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC). (d) Signal increase in the right caudate (Cd) during reproduction ($p < 0.01$, false discovery rate corrected).

The positive correlation between the duration reproduced and the BOLD signal in the left primary motor cortex suggests a connection with the motor component of the task. However, neither the nature of the movement nor the duration of the button press showed any difference in the reproduction of various intervals. Consequently, the duration-related M1 activation may not reflect the preparatory phase of the motor response, as was supported also by the parametric analysis of the random button press control task. No correlation was found between the BOLD signal and the time elapsed in this task. The motor areas may thus also serve as a time accumulator.

During reproduction, also the caudate nucleus accumulated BOLD signal with increasing duration (Fig. 2d), which is in agreement with proposed importance of the fronto-striatal system in time perception [23]. The caudate has

many connections with the prefrontal cortex [24], according to its important role in cognitive processes. Moreover, activation of the right caudate concurs with higher working memory load [11] or with impaired time reproduction in Parkinson's disease, in patients with left hemibody involvement [25], suffering from dopamine deficit in the right hemisphere.

CONCLUSION

We found several cortical and subcortical areas with BOLD signal intensity varying as a monotonic function of the time interval retained/reproduced. In contrast to the conventional 'block' or 'event-related' fMRI designs, our parametric analysis approach was better suited to eliminate contamination by parallel processes usually accompanying all executive

tasks. Time-related signal changes were found in the DLPFC, anterior cingulum, SMA, precuneus, parietotemporal cortex, basal ganglia, and cerebellum, that is, in areas reportedly involved in time perception tasks. Our data corroborate the notion of one or more of these areas functioning as charging and/or discharging time accumulators.

REFERENCES

- Church RM. Properties of the internal clock. *Ann NY Acad Sci* 1984; **423**:566–582.
- Baddeley A. Working memory. *Science* 1992; **255**:556–559.
- Matell MS, Meck WH. Cortico-striatal circuits and interval timing: coincidence detection of oscillatory processes. *Brain Res Cogn Brain Res* 2004; **21**:139–170.
- Durstewitz D. Self-organizing neural integrator predicts interval times through climbing activity. *J Neurosci* 2003; **23**:5342–5353.
- Reutimann J, Yakovlev V, Fusi S, Senn W. Climbing neuronal activity as an event-based cortical representation of time. *J Neurosci* 2004; **24**:3295–3303.
- Wackermann J, Ehm W, Späti J. The 'klepsydra model' of internal time representation. In: Berglund B, Borg E (eds). *Fechner Day 2003*. Stockholm: International Society for Psychophysics; 2003, pp. 331–336.
- Lewis PA, Miall RC. Distinct systems for automatic and cognitively controlled time measurement: evidence from neuroimaging. *Curr Opin Neurobiol* 2003; **13**:250–255.
- Rao SM, Mayer AR, Harrington DL. The evolution of brain activation during temporal processing. *Nat Neurosci* 2001; **4**:317–323.
- Rubia K, Smith A. The neural correlates of cognitive time management: a review. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2004; **64**:329–340.
- Coull JT, Vidal F, Nazarian B, Macar F. Functional anatomy of the attentional modulation of time estimation. *Science* 2004; **303**:1506–1508.
- Braver TS, Cohen JD, Nystrom LE, Jonides J, Smith EE, Noll DC *et al*. A parametric study of prefrontal cortex involvement in human working memory. *Neuroimage* 1997; **5**:49–62.
- Manoach DS, Schlaug G, Siewert B, Darby DG, Bly BM, Benfield A *et al*. Prefrontal cortex fMRI signal changes are correlated with working memory load. *Neuroreport* 1997; **8**:545–549.
- Kirschen MP, Chen SH, Schraedley-Desmond P, Desmond JE. Load- and practice-dependent increases in cerebro-cerebellar activation in verbal working memory: an fMRI study. *Neuroimage* 2005; **24**:462–472.
- Rubia K, Overmeyer S, Taylor E, Brammer M, Williams S, Simmons A *et al*. Prefrontal involvement in 'temporal bridging' and timing movement. *Neuropsychologia* 1998; **36**:1283–1293.
- Brunia CH, de Jong BM, van den Berg-Lenssen MM, Paans AM. Visual feedback about time estimation is related to a right hemisphere activation measured by PET. *Exp Brain Res* 2000; **130**:328–337.
- Paus T. Primate anterior cingulate cortex: where motor control, drive and cognition interface. *Nat Rev Neurosci* 2001; **2**:417–424.
- Niki H, Watanabe M. Prefrontal and cingulate unit activity during timing behavior in the monkey. *Brain Res* 1979; **171**:213–224.
- Macar F, Lejeune H, Bonnet M, Ferrara A, Pouthas V, Vidal F *et al*. Activation of the supplementary motor area and of attentional networks during temporal processing. *Exp Brain Res* 2002; **142**:475–485.
- Akkal D, Escola L, Bioulac B, Burbaud P. Time predictability modulates pre-supplementary motor area neuronal activity. *Neuroreport* 2004; **15**:1283–1286.
- Constantinidis C, Williams GV, Goldman-Rakic PS. A role for inhibition in shaping the temporal flow of information in prefrontal cortex. *Nat Neurosci* 2002; **5**:175–180.
- Harrington DL, Boyd LA, Mayer AR, Sheltraw DM, Lee RR, Huang M *et al*. Neural representation of interval encoding and decision making. *Brain Res Cogn Brain Res* 2004; **21**:193–205.
- Malapani C, Dubois B, Rancurel G, Gibbon J. Cerebellar dysfunctions of temporal processing in the seconds range in humans. *Neuroreport* 1998; **9**:3907–3912.
- Ferrandez AM, Hugueville L, Lehericy S, Poline JB, Marsault C, Pouthas V *et al*. Basal ganglia and supplementary motor area subsecond duration perception: an fMRI study. *Neuroimage* 2003; **19**:1532–1544.
- Nakano K, Kayahara T, Tsutsumi T, Ushiro H. Neural circuits and functional organization of the striatum. *J Neurol* 2000; **247**(Suppl. 5): V1–V15.
- Koch G, Brusa L, Oliveri M, Stanzione P, Caltagirone C. Memory for time intervals is impaired in left hemi-Parkinson patients. *Neuropsychologia* 2005; **43**:1163–1167.

Theta-burst transcranial magnetic stimulation of the supplementary motor area decreases variability of temporal estimates

P. Dušek¹, R. Jech^{1,CA}, P. Havráňková¹, J. Vymazal² and J. Wackermann³

¹Dept. of Neurology and Center of Clinical Neuroscience, Charles University in Prague, 1st Faculty of Medicine and General University Hospital, Prague, Czech Republic

²Dept. of Stereotactic Neurosurgery, Na Homolce Hospital, Prague, Czech Republic

³Institute for Frontier Areas of Psychology, Freiburg in Br., Germany

^{CA} Corresponding author:

Robert Jech, MD, Ph.D., Department of Neurology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Kateřinská 30, 120 00, Praha 2, Czech Republic.

E-mail: jech@cesnet.cz

Phone: (+420) 224 965 540

Fax: (+420) 224 965 078

Abstract

Objectives: Supplementary motor area (SMA) was suggested to have a dominant role in temporal control of behavior by many neuroimaging studies. Aim of this study was to support this hypothesis by influencing time estimates with theta burst transcranial magnetic stimulation (TMS) of the SMA.

Methods: Nineteen healthy volunteers with a mean age 25.9 ± 3 (SD) years performed time reproduction task (TRT) before and after 190 seconds of intermittent theta-burst TMS of SMA and precuneus (total 600 pulses). The TRT consisted of an encoding phase (during which visual stimuli of durations 5, 10 and 16.82 seconds were presented pseudorandomly) and a reproduction phase (during which interval durations were reproduced by a button pressing). Mean subjects' interval estimates as a measure of accuracy and standard deviation as a measure of variability pre-TMS and post-TMS were compared.

Results: Theta-burst TMS over both areas had no effect on accuracy of duration estimates. Increased variability of interval reproduction was present after the stimulation of the precuneus ($p < 0.01$) with the biggest effect on the five second interval. Stimulation of SMA caused decrease of variability of the ten second interval only ($p < 0.05$).

Conclusion: Increased variability of time estimates is likely a non-specific result of an impaired attention and working memory after the theta-burst TMS. Decreased variability after the stimulation over SMA could be explained in terms of enhanced activity of a physiological oscillator with a frequency close to 0.1 Hz.

Key words: interval timing; time reproduction task; precuneus; SMA; TMS; theta-burst stimulation

Introduction

Keeping track of time is an important cognitive function. Whereas perception of environmental sensory stimuli and planning of motor response requires measurements in the range of hundreds of milliseconds, human subjective perception of time flow is supposedly based on the perception of intervals ranging from 3 to dozens of seconds (Wackermann 2007). Neuroimaging research and lesion studies have found several brain areas, which are involved in interval timing (for review see (Coull et al. 2011)). Cerebellum and primary sensorimotor cortex (SM1) have been more likely activated by tasks using time intervals in the millisecond range. Network comprising basal ganglia, insular cortex, posterior parietal cortex (PPC) and dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) has been more likely activated by tasks involving suprasecond time intervals (Lewis and Miall 2003; Koch et al. 2009). Recent voxel-wise meta-analysis stressed the importance of supplementary motor area (SMA) and right inferior frontal gyrus for time perception across various perceptual and motor timing tasks (Wiener et al. 2010).

Besides functional imaging studies, repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) has been successfully used to investigate brain areas involved in temporal processing. Two rTMS studies showed an underestimation of time intervals in the range of seconds after stimulation of the right

DLPFC (Jones et al. 2004; Koch et al. 2003) and two another studies showed disruption of temporal processing in the range of milliseconds after stimulation of cerebellum (Del Olmo et al. 2007; Fierro et al. 2007), supporting predicted roles of these areas in interval timing. Repetitive TMS of the right PPC caused underestimation of reproduced time in the time bisection task (Oliveri et al. 2009). Recently, rTMS over the primary auditory cortex has been shown to impair estimation of duration of visual and auditory stimuli in the milliseconds range (Kanai et al. 2011).

Repetitive TMS can influence brain function depending on the stimulation protocol. Previous studies mostly employed protocols with the intention to cause “virtual lesion” of the stimulated cortex. A supposedly inhibiting protocol, rTMS train of frequency 1 Hz lasting 10 minutes preceding the task, was used in two studies (Oliveri et al. 2009; Koch et al. 2003). Jones et al used a protocol of four stimuli at 20 Hz over the right DLPFC and SMA during estimation or reproduction phase of the time reproduction task (Jones et al. 2004). Theta-burst TMS (TBS) is another protocol, which comprises of three pulses at 50Hz repeated at intervals of 200ms. It has been shown to elicit a long-lasting (up to an hour) and powerful stimulating or inhibiting effect on the motor cortex depending on the pattern of stimulation (Huang et al. 2005). Intermittent TBS, a train of stimuli, where this pattern is repeated for 2 seconds and is followed by 8 seconds of rest, has been shown to increase excitability of the motor cortex (Huang et al. 2005). Continuous TBS lasting 40 seconds has been recently used to document roles of primary visual and auditory cortices in time perception (Kanai et al. 2011).

Our previous functional magnetic resonance imaging (fMRI) study using time reproduction task of durations ranging from 5 to 16.82 seconds showed several brain areas with gradual activation or deactivation during encoding or reproduction of time intervals. Among these areas, SMA showed gradual activation and precuneus showed gradual deactivation in the reproduction phase of the task. We interpreted the gradual activation of SMA as a possible “time accumulator” (Jech et al. 2005). Surprisingly, previous studies examining the effect of rTMS over SMA on time perception have been negative (Jones et al. 2004; Koch et al. 2004). Aim of this study was to support the role of SMA in time perception. Contrary to previous studies, we did not intend to make a “virtual lesion”, instead we hypothesized that the supposedly stimulating intermittent TBS over SMA might lead to more precise time estimates.

We compared the effect of stimulation over SMA to the effect of stimulation over precuneus. Unlike SMA, precuneus has not been convincingly associated with time perception in humans, but several studies suggested its role in interval timing (Harrington et al. 2004; Wittmann et al. 2010). The connection of its gradual deactivation found in our previous study to time estimation thus remains unclear. Precuneus is part of the so called “default network” which is decreasing its activity during tasks requiring externally oriented attention (Buckner et al. 2008). Precuneus has been shown to have a role in autobiographical memory retrieval (Cavanna and Trimble 2006). Recent study showed facilitation of performance in a delayed match-to-sample task during 5Hz rTMS of precuneus (Luber et al. 2007). Thus, we did not have specific hypothesis regarding the effect of TMS over precuneus.

Methods

Participants

19 right-handed healthy volunteers (8 males; mean age 25.9 ± 3 (SD) years) participated in the study. A signed, informed consent was obtained from all participants and the study was approved by the local ethics committee.

Task

The time reproduction task consisted of two phases: encoding and reproduction. During the encoding phase, participants had to retain the duration of a presented visual stimulus – a gray square with a centered red cross. The encoding interval was followed by a 3 seconds interstimulus interval, during which an indifferent stimulus (gray cross) was displayed. The reproduction phase started by appearance of a gray square with a centered green cross and participants were required to reproduce the retained duration by pressing a button with their right index finger. The button press was followed by 3 seconds interstimulus interval. Three interval durations (5, 10 and 16.82 seconds) were repeated six-times in a pseudorandom order in every experimental block. The 16.82 second interval was chosen, because it is part of a geometric sequence $x_{i+1} = x_i \cdot 2^{1/4}$ (Jech et al. 2005). It took approximately twelve minutes to complete the task. Participants were instructed to fixate centrally on the cross throughout the task and to avoid mental counting. The task was practiced with the subjects before the experiment.

Transcranial magnetic stimulation procedure and target sites

Theta-burst TMS was performed using a figure-eight 70-mm air-cooled double coil attached to a Magstim Rapid stimulator (Magstim, Whitland, UK). Intermittent TBS at 100% intensity of resting right tibial anterior muscle motor threshold was used. Intermittent TBS procedure is described in (Huang et al. 2005) and comprises of 3 stimuli at 50Hz repeated ten-times at intervals of 200ms, followed by a pause of eight seconds. This sequence was repeated twenty-times, so that 600 of pulses were delivered during the train. The motor threshold was based on the intensity of the leg motor area stimulation, which elicited motor responses in the right tibial anterior muscle in four out of eight single TMS pulses. Motor response was measured by electromyography and defined as a muscle contraction of 150 μ V amplitude. The target position of the coil was reached using the frameless stereotaxy navigation systemBrainsight (Rogue Research, Montreal, Canada).

There were two TMS sites tested, precuneus and SMA. Positions were defined in a standard Montreal Neurological Institute (MNI) stereotactic space and the coordinates were adapted from our previous fMRI study ($x=0$, $y=-62$, $z=48$) for precuneus and ($x=0$, $y=2$, $z=48$) for SMA (Jech et al. 2005). These positions were transformed through reverse normalization back into the native space of each subject. The SPM5 software (The Wellcome Department of Imaging, London, UK) was employed for forward and reverse normalization procedures.

Each subject performed the task four-times, before (pre-TMS session) and after stimulation (post-TMS session) of the precuneus and before and after stimulation of the SMA. TBS started approximately ten

minutes after the completion of the pre-TMS session and the post-TMS session started right after the TBS procedure. The study protocol was divided in two consecutive days due to safety reasons and in order to reduce fatigue. The order of precuneus and SMA site stimulation was counterbalanced across participants. Subjects were asked to rate the pain induced by the TMS procedure as none (0), mild (1), moderate (2) or severe (3). Pain induced by TMS was not significantly different when comparing the stimulation sites (SMA 1.45 (mean) ± 0.6 (SD), precuneus 1.10 ± 0.8 , paired t-test, $p=0.11$).

Analysis

Four Two-way ANOVA with repeated measures and factors of condition (pre-TMS, post-TMS) and duration (5, 10, 16.82 s) were used for the analysis. It was carried out separately for both sites (SMA, precuneus) on two indices: mean subjects' interval estimates as a measure of accuracy and standard deviation as a measure of variability. Post hoc tests were corrected for multiple comparisons by Bonferroni correction.

Results

There was no significant difference in accuracy of reproduced durations after TMS over SMA ($F(1, 18) = 2.02$, $p=0.17$) and over precuneus ($F(1, 18) = 0.13$, $p=0.73$) (figure 1, table 1). ANOVA carried out on the index of variability (SD) yielded significant effect of condition after TMS of precuneus ($F(1, 18) = 12.26$, $p<0.01$) and a significant interaction condition \times duration after TMS of SMA ($F(2, 36) = 3.36$, $p<0.05$). Four post-hoc paired t-test were performed and showed, that SD of 5 second interval was increased in the precuneus condition (paired t-test, $p<0.001$) and SD of 10 second interval was decreased in the SMA condition (paired t-test, $p<0.05$). SD was increased in all other post-TMS conditions, however not significantly.

Discussion

Accuracy of temporal estimates was not influenced by the stimulation of SMA, which is in line with previous research (Jones et al. 2004; Koch et al. 2003). Reproduced durations in all experimental conditions complied with the "Vierodt's law", i.e. short intervals were overestimated and long intervals underestimated compared to their physical duration (von Vierodt 1868). However, variability of reproduced durations was altered by the TMS of SMA and precuneus. Increased variability of estimates was observed in all intervals after the stimulation of both sites, except of the 10 second interval in the SMA condition. It might be therefore regarded as an unspecific consequence of stimulation. However, according to the *post-hoc* tests, this increase was significant only for the 5 second interval in the precuneus condition. There is no theoretical basis, why 5 seconds interval variability should be influenced. The study of Perbal et al showed similarly disproportionately increased variability in the five second interval reproduction, but this finding was left without explanation (Perbal et al. 2001). Increased variability was observed in many neurodegenerative disorders, focal brain lesions and after traumatic brain injury and this inconsistency of cognitive performance was explained in terms of slower processing speed, impaired attention or decreased capacity of working memory (Gibbon et al. 1997; Pouthas and Perbal 2004). Increased variability can

be thus regarded as an unspecific effect of acoustic or unpleasant sensory components of the stimulation, which might have worsen attention or memory processes.

Decreased variability of the time estimates after the TMS over SMA was selective for the 10 second interval. This was not the effect of outliers, since there were none outliers among the estimates of 10 second interval in the post-TMS SMA condition and very few outliers were filtered in other conditions. It is also unlikely an effect of interference with attention or working memory since these changes would affect all interval durations in a similar manner. The role of pre-SMA and SMA in interval timing is well established. In a recent voxel-wise meta-analysis, SMA was one of two brain areas uniformly activated by temporal tasks regardless of interval duration and task characteristics (Wiener et al. 2010). A microrecording study in monkeys has shown that many neurons in SMA and pre-SMA respond selectively to different interval durations in the range of seconds (Mita et al. 2009). However, the reason for the selective effect on 10 seconds interval remains unclear. One of the possible explanations may be the supposed nonlinear nature of timing, i.e. different sensitivity for different durations. It has been showed that rats have highest sensitivity for timing of intervals in the range 8-12 seconds (Crystal 2001). This fact suggests the presence of a physiological oscillator with a frequency close to 0.1 Hz. Such a low frequency oscillation in the SMA region have been described in fMRI studies, where activity in the SMA was anticorrelated to the resting state default mode network fluctuations at frequency range 0.012 – 0.1 Hz (Fransson 2005). From this standpoint, it is unclear why only fluctuations at frequency 0.1 Hz and not other frequencies should be influenced and the hypothesis that TBS increased the power of low frequency oscillations in SMA remains highly speculative. Another possible explanation comes from the TBS pattern (Huang et al. 2005). The intermittent TBS has an alternating pattern of two seconds of supposedly activating stimulation and eight seconds of rest, giving a 10 second period of stimulation. This could have biased our results since regular temporal pattern of environmental stimuli can enhance accuracy of temporal processing (Coull et al. 2011). Nevertheless, it is unlikely that purely sensory component of stimulation influenced the estimates of the 10 second interval in the SMA condition since the stimulation of the precuneus shared the same sensory features. Speculatively, the periodic excitatory stimulation of the SMA could have “programmed” this area for 10 second interval or even enhanced its intrinsic 0.1 Hz oscillations. This hypothesis should be examined by other studies using theta-burst protocol with different periods.

This study has several other limitations. Despite the fact, that several rTMS studies managed to influence activity of pre-SMA (Chen et al. 2009) and precuneus (Luber et al. 2007), it remains technically difficult to target deep midline areas by rTMS. However, we believe that stimulation addressed desired spots since frameless stereotaxy was used and variability of time estimates was influenced. This study did not use a dedicated control condition, because primary motor or sensory cortices as control sites were unsuitable for our protocol using a supra-threshold stimulation and sham coil does not replicate all the sensory features of the active stimulation. Instead, we compared effects of TBS on two “active” brain sites. Therefore, TMS over SMA and precuneus might have hypothetically influenced temporal estimates in the same way making it impossible to distinguish specific effect of brain TMS from its unspecific sensory features. Nevertheless, the main finding of this study,

decreased variability of 10 second interval reproductions, was specific for the SMA condition and likely represents direct effects of TMS on this area.

Acknowledgements

Authors received financial support from the Czech Science Foundation: grant project 309/09/1145, the Czech Ministry of Health: IGA MZ ČR NT12282-5/2011, the research grant GAUK 203427 and Czech Ministry of Education (MŠM 0021620849).

Reference List

1. Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL (2008). The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Ann N Y Acad Sci.* **1124**: 1-38.
2. Cavanna AE, Trimble MR (2006). The precuneus: a review of its functional anatomy and behavioural correlates. *Brain.* **129**: 564-583.
3. Chen CY, Muggleton NG, Tzeng OJ, Hung DL, Juan CH (2009). Control of prepotent responses by the superior medial frontal cortex. *Neuroimage.* **44**: 537-545.
4. Coull JT, Cheng RK, Meck WH (2011). Neuroanatomical and neurochemical substrates of timing. *Neuropsychopharmacology.* **36**: 3-25.
5. Crystal JD (2001). Nonlinear time perception. *Behav Processes.* **55**: 35-49.
6. Del Olmo MF, Cheeran B, Koch G, Rothwell JC (2007). Role of the cerebellum in externally paced rhythmic finger movements. *J Neurophysiol.* **98**: 145-152.
7. Fierro B, Palermo A, Puma A, Francolini M, Panetta ML, Daniele O, *et al.* (2007). Role of the cerebellum in time perception: a TMS study in normal subjects. *J Neurol Sci.* **263**: 107-112.
8. Fransson P (2005). Spontaneous low-frequency BOLD signal fluctuations: an fMRI investigation of the resting-state default mode of brain function hypothesis. *Hum Brain Mapp.* **26**: 15-29.
9. Gibbon J, Malapani C, Dale CL, Gallistel C (1997). Toward a neurobiology of temporal cognition: advances and challenges. *Curr Opin Neurobiol.* **7**: 170-184.
10. Harrington DL, Boyd LA, Mayer AR, Sheltraw DM, Lee RR, Huang M, *et al.* (2004). Neural representation of interval encoding and decision making. *Brain Res Cogn Brain Res.* **21**: 193-205.
11. Huang YZ, Edwards MJ, Rounis E, Bhatia KP, Rothwell JC (2005). Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron.* **45**: 201-206.
12. Jech R, Dusek P, Wackermann J, Vymazal J (2005). Cumulative blood oxygenation-level-dependent signal changes support the 'time accumulator' hypothesis. *Neuroreport.* **16**: 1467-1471.
13. Jones CR, Rosenkranz K, Rothwell JC, Jahanshahi M (2004). The right dorsolateral prefrontal cortex is essential in time reproduction: an investigation with repetitive transcranial magnetic stimulation. *Exp Brain Res.* **158**: 366-372.
14. Kanai R, Lloyd H, Buetti D, Walsh V (2011). Modality-independent role of the primary auditory cortex in time estimation. *Exp Brain Res.* **209**: 465-471.
15. Koch G, Oliveri M, Brusa L, Stanzione P, Torriero S, Caltagirone C (2004). High-frequency rTMS improves time perception in Parkinson disease. *Neurology.* **63**: 2405-2406.

16. Koch G, Oliveri M, Caltagirone C (2009). Neural networks engaged in milliseconds and seconds time processing: evidence from transcranial magnetic stimulation and patients with cortical or subcortical dysfunction. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* **364**: 1907-1918.
17. Koch G, Oliveri M, Torriero S, Caltagirone C (2003). Underestimation of time perception after repetitive transcranial magnetic stimulation. *Neurology.* **60**: 1844-1846.
18. Lewis PA, Miall RC (2003). Distinct systems for automatic and cognitively controlled time measurement: evidence from neuroimaging. *Curr Opin Neurobiol.* **13**: 250-255.
19. Luber B, Kinnunen LH, Rakitin BC, Ellsasser R, Stern Y, Lisanby SH (2007). Facilitation of performance in a working memory task with rTMS stimulation of the precuneus: frequency- and time-dependent effects. *Brain Res.* **1128**: 120-129.
20. Mita A, Mushiaki H, Shima K, Matsuzaka Y, Tanji J (2009). Interval time coding by neurons in the presupplementary and supplementary motor areas. *Nat Neurosci.*
21. Oliveri M, Koch G, Salerno S, Torriero S, Lo GE, Caltagirone C (2009). Representation of time intervals in the right posterior parietal cortex: implications for a mental time line. *Neuroimage.* **46**: 1173-1179.
22. Perbal S, Ehrle N, Samson S, Baulac M, Pouthas V (2001). Time estimation in patients with right or left medial-temporal lobe resection. *Neuroreport.* **12**: 939-942.
23. Pouthas V, Perbal S (2004). Time perception depends on accurate clock mechanisms as well as unimpaired attention and memory processes. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. **64**: 367-385.
24. von Vierodt K (1868): *Der Zeitsinn nach Versuchen*. H. Laupp: Tübingen.
25. Wackermann J (2007). Inner and outer horizons of time experience. *Span J Psychol.* **10**: 20-32.
26. Wiener M, Turkeltaub P, Coslett HB (2010). The image of time: a voxel-wise meta-analysis. *Neuroimage.* **49**: 1728-1740.
27. Wittmann M, van Wassenhove V, Craig AD, Paulus MP (2010). The neural substrates of subjective time dilation. *Front Hum Neurosci.* **4**: 2.

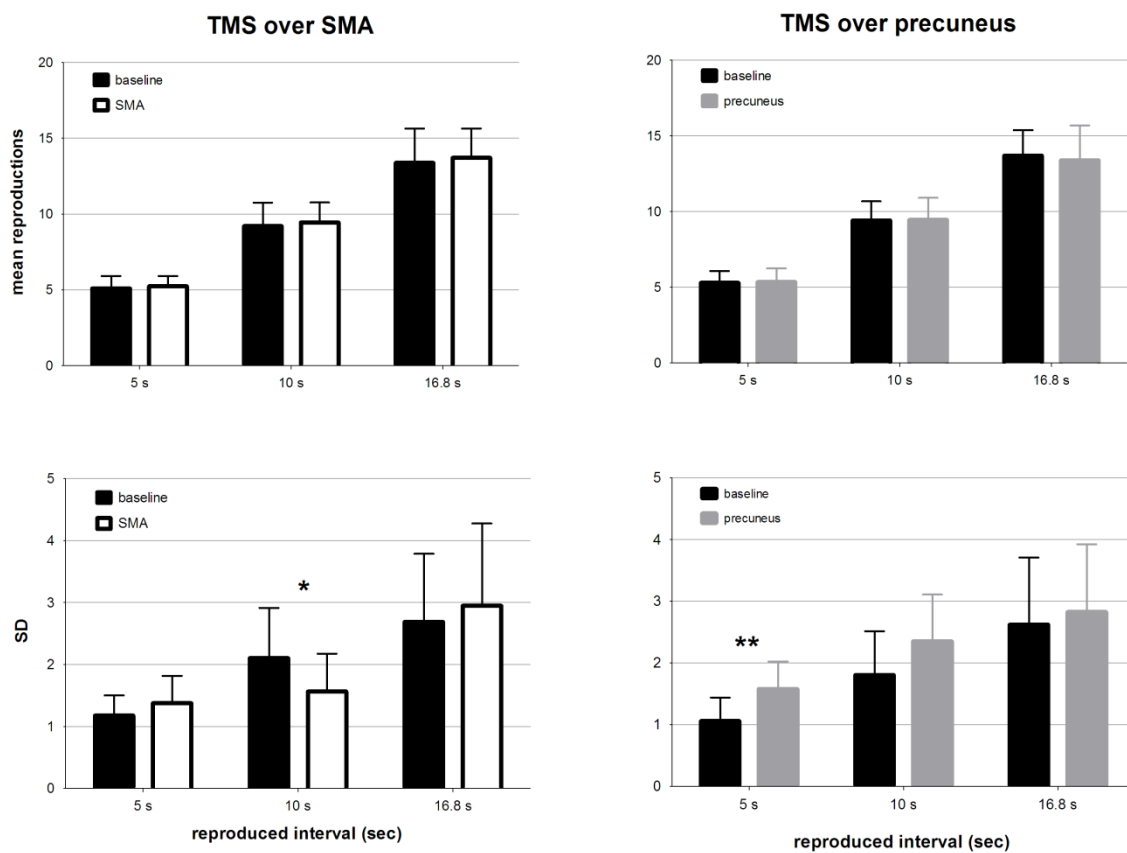
Table 1

Mean reproductions (seconds) and mean SD for every condition and interval duration.

	SMA				precuneus			
	mean		SD		mean		SD	
	pre TMS	post TMS	pre TMS	post TMS	pre TMS	post TMS	pre TMS	post TMS
5 sec	5.09±0.8	5.23±0.7	1.18±0.3	1.38±0.4	5.30±0.8	5.34±0.9	1.05±0.4	1.57±0.5
10 sec	9.20±1.6	9.44±1.3	2.1±0.8	1.56±0.6	9.41±1.3	9.45±1.5	1.80±0.7	2.35±0.8
16.82 sec	13.38±2.3	13.70±1.9	2.69±1.1	2.95±1.3	13.69±1.7	13.38±2.3	2.62±1.1	2.82±1.1

Figure 1

Mean reproductions (accuracy) and mean standard deviations (variability) of interval duration estimates in all conditions. Values for pre and post TMS conditions are depicted separately for SMA (left) and precuneus (right). Significant differences in post-hoc paired t-tests are shown above the bars.



Abnormal activity in the precuneus during time perception in Parkinson's disease: an fMRI study

Petr Dušek^{1, CA}, Josef Vymazal², Evžen Růžička¹, Jiří Wackermann³, Robert Jech^{1*}, Karsten Müller^{4*}

¹Dept. of Neurology and Center of Clinical Neuroscience, Charles University in Prague, 1st Faculty of Medicine and General University Hospital, Prague, Czech Republic

²Dept. of Stereotactic Neurosurgery, Na Homolce Hospital, Prague, Czech Republic

³Institute for Frontier Areas of Psychology, Freiburg i. Br., Germany

⁴Max Planck Institute for Human Cognitive and Brain Sciences, Leipzig, Germany

* Authors equally contributed to the work

^{CA} Corresponding author:

Petr Dušek, MD, Department of Neurology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Kateřinská 30, 120 00, Praha 2, Czech Republic.

E-mail: dusek@nanoware.cz

Phone: (+420) 224 965 528

Fax: (+420) 224 965 078

Abstract

Background: Parkinson's disease (PD) patients are deficient in time estimation. This deficit improves after dopamine (DA) treatment and it has been associated with decreased internal timekeeper speed, executive disruption and memory retrieval dysfunction.

Methodology/Findings: The aim of the present study was to explore the neurophysiologic correlates of this deficit. We performed functional magnetic resonance imaging (fMRI) on twelve PD patients while they were performing a time reproduction task (TRT). The TRT consisted of an encoding phase (during which visual stimuli of durations from 5 to 16.6 sec, varied at 8 levels were presented) and a reproduction phase (during which interval durations were reproduced by a button pressing). Patients were scanned twice, once while on their DA medication (ON condition) and once after medication withdrawal (OFF condition). Differences in Blood-Oxygenation-Level-Dependent (BOLD) signal in ON and OFF conditions were evaluated. The time course of activation in the brain areas with different BOLD signal was plotted. There were no significant differences in the behavioral results, but a trend toward overestimation of intervals ≤ 11.9 s and underestimation of intervals ≥ 14.1 s in the OFF condition ($p < 0.097$). During the reproduction phase, higher activation in the precuneus was found in the ON condition ($p < 0.05$ corrected). Time course was plotted separately for long (≥ 14.1 s) and short (≤ 11.9 s) intervals. Results showed that there was a significant difference only in long intervals, when activity gradually decreased in the OFF, but remained stable in the ON condition.

Conclusions/Significance: Our results show that differences in precuneus activation during retrieval of a remembered duration may underlie some aspects of time perception deficit in PD

patients. We suggest that DA medication may allow compensatory activation in the precuneus, which results in a more accurate retrieval of remembered interval duration.

Key words: interval timing; time perception; time reproduction task; Parkinson's disease; precuneus; migration effect

Introduction

Parkinson's disease (PD) patients are deficient in tasks requiring time estimation. This deficit is partially improved by dopamine (DA) medication. Noted among these time estimation tasks were: prospective time production task [1], retrospective time estimation task, time reproduction task [2] and time discrimination task [3]. It was shown that PD patients give longer prospective and shorter retrospective time estimates and the results were explained in terms of slower internal timekeeper speed [2]. The slower internal timekeeper rate hypothesis is in accordance with animal research, which has shown that DA agonists increase the rate and antagonists decrease the rate of the hypothetical "internal clock" [4]. However, time perception deficits accountable to different timekeeper rate were not replicated by other studies [5–8] and the nature and relevance of timing deficits in PD remain a rather controversial topic. The role of basal ganglia [9,10] and DA transmission [11] in time perception has also been questioned recently.

A specific timing disorder has been described in PD patients, which is characterized by a tendency to overestimate shorter and underestimate longer interval, when estimated within one experimental session. In the original study, PD patients reproduced an 8 second interval as 8.9 seconds long and a 21 second interval as 17.3 seconds long [12]. This phenomenon was named the migration effect and was explained in terms of abnormal memory retrieval [12]. Underestimation of the longer interval did not occur when it was learned and reproduced alone. It was hypothesized that "migration" is consequential of mutual interference and that an averaging tendency between the two time intervals during memory retrieval occurs [13]. This migration effect appears only after antiparkinsonian medication withdrawal (OFF condition). Improvement has been observed after DA replacement therapy (ON condition) [12] and even after deep brain stimulation of the subthalamic nucleus (DBS-STN) [14].

The neural basis of PD patients' timing deficit is still poorly understood. The migration effect is more pronounced in left hemi-Parkinsonian patients [15]. This is in agreement with the supposed prominent role of the right hemisphere in time perception [16,17]. Timing deficit in PD is improved by repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) of the right dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) [18], suggesting that dysfunctional mnemonic and decisional processes subserved by this brain area contribute to disordered timing. The basal ganglia, cerebellum, DLPFC, supplementary motor area (SMA), insular and parietal cortex have been suggested to play a role in time perception (for review see [19,20]). It has also been suggested that brain areas activated during the processing of sub-second and supra-second intervals are not identical. Whereas sub-second intervals seem to be processed by a motor circuitry comprised of the primary sensorimotor cortex, SMA and cerebellum; supra-second intervals more likely activate the associative cognitive areas including DLPFC, insular

and parietal cortices [21]. Recent voxel-wise meta-analysis stressed the importance of SMA and right inferior frontal gyrus for time perception across various perceptual and motor timing tasks including sub-second and supra-second intervals [22]. Many of the above mentioned areas are dopamine dependent and have been shown to be dysfunctional in PD [23,24]. However, little is known about whether and how these dysfunctions contribute to PD patients' deficit in time perception.

So far, several neuroimaging studies investigated the neurophysiologic basis of timing deficit in PD patients [25–28]. However, these studies examined motor timing of relatively short durations, which makes it difficult to distinguish between timing related and motor related activity. Another study examined time perception in PD using time interval comparison tasks with durations 1.2 and 1.8 seconds [29]. Different brain areas were found to underlie the PD patients' deficits during the encoding and decision phases. Striatal dysfunction was found during both phases, but working memory network comprising of DLPFC, parietal cortex and cerebellum was only deranged during encoding, posterior cingulate and parahippocampal cortices during decision phase.

As yet, no studies have examined brain activation in PD patients during the perception of longer supra-second intervals. The human subjective perception of time flow ranges from 3 to dozens of seconds [30]. This time range is also where the migration effect has occurred in studies [12,14]. The aim of our study was to elucidate the neurophysiologic basis of PD patient's deficit in time perception, namely of the migration effect, using functional magnetic resonance imaging (fMRI). We hypothesized that in the OFF condition, the cognitive, rather than the motor network would be dysfunctional. We also expected to find more deranged brain activation patterns during the reproduction phase, since the migration effect was shown to be a result of memory retrieval dysfunction.

Methods

Ethics statement

A signed, informed consent was obtained from all participants and the study was approved by the ethics committee of General University Hospital in Prague.

PD patients

Twelve mild to moderate PD patients, 10 male, age 60 (mean) \pm 8.7 (SD) years, disease duration 6.8 ± 3.2 years, 6 with dominant right hemi-body involvement, participated in the study. Only right-handed subjects without signs of dementia (Mini-Mental State Examination score ≥ 28) or severe depression (Beck Depression Inventory score ≤ 18) were included. The degree of motor impairment was assessed by the motor subscale of Unified Parkinson's disease rating scale (UPDRS-III). Patients with a tremor as a dominant symptom and patients with substantial dyskinesias were excluded. All but one patient were on a stable combined DA medication with levodopa and DA agonist, taking 680 ± 321 mg of levodopa equivalent [31]. One patient was treated with amantadine only and was given a single dose of levodopa (250 mg) in the ON condition after domperidone pretreatment.

Each patient was examined twice, in ON and OFF conditions, in a counter-balanced order. The scanning was always performed at the same time of day and the interval between fMRI sessions ranged from 1 to 5 weeks. The examination in the OFF condition was performed after 78 hours DA

agonist and 12 hours levodopa withdrawal. In the ON condition, patients were taking their regular antiparkinsonian medication and were scanned 1 hour after a DA medication dose, so they were studied in their best ON condition. UPDRS-III was examined before scanning and the score was 24 ± 7 in the OFF condition and 16 ± 8 in the ON condition (paired t-test, $p < 0.001$). A simple reaction time task was also performed which had no significant differences in the OFF and ON conditions (257 ± 50 ms vs 261 ± 58 ms; $p = 0.84$).

Time reproduction task

The same paradigm as in our previous study [32] was used. TRT consisted of two phases: encoding and reproduction. During the encoding phase, subjects had to retain the duration of a presented visual stimulus – a gray square with a red cross in the centre. The encoding phase was followed by a constant inter-stimulus interval (10 s), during which an indifferent stimulus (gray cross) was displayed. In the reproduction phase, the subject had to reproduce the retained duration by pressing a joystick button with his/her right index finger. The reproduction phase started by presenting a gray square with a green cross in the centre, which was displayed for 1.5-times the duration of the encoding interval. If the subject failed to press the button by the end of the reproduction phase, the trial was considered to be a missed response and was not used for the analysis. Each experimental session comprised 16 trials. In each trial, the duration of the encoding interval was selected pseudo-randomly out of a set of eight durations: 5.00, 5.95, 7.07, 8.41, 10.00, 11.89, 14.14 and 16.82 s (i.e., a geometric sequence $x_{i+1} = x_i \cdot 2^{1/4}$) so that each interval was used twice. Subjects were instructed to fixate centrally the cross throughout the task and to avoid mental counting.

Patients practiced the task off the scanner before each session. For training purposes, TRT with time intervals of 5, 10 and 16.82 seconds was used. Only behavioral data from the scanning session were used for analysis.

FMRI image acquisition

Blood Oxygenation Level Dependent (BOLD)-fMRI was performed on a Siemens Symphony 1.5 T scanner, using the gradient echo echo-planar sequence (TR=2.9 s, TE=56 ms, FA=90 deg). A total of 260 volumes consisting of 25 continuous, 4-mm thick axial slices using image matrix 64x64 were obtained during the task. During the ON condition, a structural image was acquired using a 3D T1-weighted magnetization-prepared rapid gradient echo acquisition (MP-RAGE) sequence with a slice thickness of 1.6 mm.

fMRI image preprocessing and statistical analysis

The data analysis was performed twice using SPM (Statistical Parametric Mapping, Wellcome Department of Cognitive Neurology, London, UK) [33] and Lipsia (Leipzig Image Processing and Statistical Inference Algorithms, Max Planck Institute for Human Cognitive and Brain Sciences, Leipzig, Germany) [34]. The data was evaluated using both packages in order to ensure the correctness of the results by two analytical approaches. Post-hoc testing was done solely using Lipsia. Functional data was corrected for motion and differences in slice acquisition time. Hereafter, functional slices were aligned with a 3D stereotactic coordinate reference system using a rigid linear registration. The registration parameters were acquired to achieve an optimal match (maximum mutual information) between the functional slices and a 3D reference data set. In SPM5, the functional slices were aligned with the MNI152 template (Montreal Neurological Institute) [35], and in Lipsia, the data was standardized to the Talairach stereotactic space [36]. After normalization, the data was smoothed over with a Gaussian filter of 7 mm FWHM. We also used a temporal high-pass filter with a cutoff frequency of 1/90 Hz.

The statistical evaluation was based on a least-squares estimation using the general linear model for serially autocorrelated observations [37–39]. The design matrix was generated with a synthetic hemodynamic response function [40,41]. The design was generated using the two experimental conditions *encoding* and *reproduction*. The encoding phase was defined by the time how long the red cross appeared on the screen. The reproduction phase was defined as the interval starting with the appearance of the green cross and ending with the subjects' button press. For both experimental conditions, contrast images were generated using the associated parameter estimates. Because all patients were measured twice in the ON and OFF conditions, four contrast images were computed for each patient. The contrast images were put into two second-level analyses using paired t-tests in order to search for differences between the ON and OFF conditions during encoding and reproduction phases.

The results of the second-level-analyses were corrected for multiple comparisons. In SPM, we used a family-wise error (FWE) with $p < 0.05$ and a cluster of > 100 voxels as a threshold. In Lipsia, the results were corrected using cluster-size and cluster-value thresholds obtained by Monte-Carlo simulations using a significance level of $p < 0.05$ (clusters in the resulting maps were obtained using an initial threshold of $p < 0.005$). These corrected maps were used to define regions of interest (ROIs) in order to analyze trial averages of the (pre-processed) functional data.

Results

Behavioral results

A mixed-model ANOVA with the factors of condition (ON, OFF) and interval (5.00, 5.95, 7.07, 8.41, 10.00, 11.89, 14.14 and 16.82 seconds) was used for behavioral data analysis.

The main effect of condition and the interaction between condition and interval were not significant. There was a trend towards significant interaction between condition and interval ($F(7, 88) = 1.8$, $p = 0.097$). When compared to the ON condition, the reproduction of intervals ≤ 11.9 seconds were overestimated and intervals ≥ 14.1 seconds were underestimated in the OFF condition (figure 1, table 1). Separate comparisons of single time intervals showed a significant difference only at the longest

(16.8 s) interval, where the reproduced time was significantly longer in the ON condition (paired t-test, $p < 0.05$ uncorrected).

Imaging results

The software packages SPM and FSL gave the same results: In the encoding phase, there were no significant differences between ON and OFF conditions. In the reproduction phase, the BOLD signal in the bilateral precuneus was significantly higher in the ON compared to the OFF condition ($p < 0.05$ corrected, see figure 2, table 2).

The activity in the precuneus was *post-hoc* analyzed with a focus on comparing activation during encoding and reproduction phases, time course of activation and differences between short and long durations. Contrast estimate plots in the precuneus showed that the BOLD signal decreased in both the ON and OFF conditions and during the encoding and reproduction phases. A significant difference was observed during reproduction phase only, with a decrease of deactivation in the ON condition (paired t-test, $p < 0.001$, figure 3). The time course plot of precuneus activity superimposed for all reproduced intervals showed that in the ON condition, the BOLD signal remained largely constant throughout the reproduction phase, whereas in the OFF condition it gradually decreased to approximately 10 seconds and then remained constant (figure 4).

We were also interested whether there is any difference between precuneus activity during short (overestimated) and long (underestimated) time intervals. The time course plots for short (5.00, 5.95, 7.07, 8.41, 10.00 and 11.89 seconds) and long (14.14 and 16.82 seconds) intervals during encoding and reproduction phases were computed. During the encoding phase, there was a gradual decrease in the BOLD-signal in all conditions. During reproduction phase, there was a significant difference between the ON and OFF conditions only in long intervals (paired t-test, $p < 0.001$). In the OFF condition, there was a gradual reduction of the BOLD-signal, whereas in the ON condition, activity remained constant. This difference was not seen in short intervals (figure 5).

Discussion

Early work on timing in PD stressed the decreased internal timekeeper speed in the OFF condition as a main reason for their altered time perception [2,3,33,42]. However, the migration effect cannot be explained solely from the “clock rate” effect. Mutual interaction and averaging among memory traces of time intervals during their retrieval have been suggested as an alternative explanation [13]. Another hypothetical reason is an abnormal, non-linear “time-accumulator” [43].

Even though, there was only a trend in the interaction between condition and interval, our behavioral results exhibit migration effect properties with a cut-off between 11.9 and 14.1 seconds. In the OFF condition, compared to the ON condition, reproductions of intervals ≤ 11.9 seconds were overestimated and ≥ 14.1 seconds were underestimated. All previously performed studies on PD patients have found a migration effect in 2 intervals, one which was shorter and the second which was longer than the cut-off found in our study [12–15]. It was shown that underestimation of the longer interval did not occur when it was reproduced as a single time interval and therefore it is unlikely that overestimation of the shorter and underestimation of the longer interval reflect dysfunctions of two

different timing systems. It would be interesting to investigate whether the migration effect in PD patients also occurs in the intervals below and above this cut-off. A study looking for migration effect in intervals of 0.5 and 2 seconds found only abnormal reproduction of the 2 seconds interval [44]. This finding supports the notion that perception of sub-second intervals is mediated by a different brain network which is DA independent.

Interestingly, an averaging tendency in time interval reproductions has been shown also in healthy subjects [45]. A recent study showed that the “migration effect” exists in healthy subjects during the reproduction of sub-second intervals. The same interval was reproduced differently when presented in the context of intervals with different durations. Reproduced intervals exhibited a systematic tendency to drift towards the mean of the prior distribution from which they were drawn. The authors concluded that subjects rely more on the prior mean of remembered durations when measurements are less reliable, e.g. in the case of attention deficit or in more difficult tasks [46]. Both of the latter are likely the case of PD patients in the OFF condition. Interestingly, healthy subjects exhibited the migration effect when the time reproduction task was made more difficult by involving a more demanding motor response and by prolonging the delay between encoding and reproduction [47].

Surprisingly, the only difference in brain activation between ON and OFF conditions was reduced deactivation of the precuneus during the reproduction phase in the ON condition. There are several questions arising from this finding. First, whether differences in precuneus activation are directly linked to timing or reflect unspecific effect of DA medication on cognition? And second, how are these changes related to the migration effect?

The precuneus has not convincingly been linked to interval timing, however, we observed a gradual BOLD-signal decrease in the precuneus which correlated with the time interval duration in our previous study using the same task design in healthy subjects [32]. A study using an interval discrimination task of intervals between 1-2 seconds in healthy subjects showed that precuneus activity correlated with memory distortions during encoding [48]. An increased activity of default brain network was also found as a substrate of subjective time dilatation, i.e. overestimation, which was described when subjects judged the duration of looming objects compared to steady objects with the same duration [49,50].

The precuneus has previously been connected to cognition and treatment effects in PD. It is a part of the postulated PD-related cognitive network, which is comprised of brain areas with a correlation between metabolism and cognitive functions in PD [24,51]. The degree of hypometabolism in the precuneus correlated with impaired performance of memory and executive tests in PD. Moreover, increased precuneus activity has been found after levodopa administration and DBS-STN, which was explained by increased excitatory thalamo-cortical activity rather than by a direct modulation [52,53]. Nevertheless, our result of an increased BOLD response in the precuneus in the ON condition is not merely an effect of DA medication, since it occurs only during the reproduction phase, but not during the encoding phase and hence is task specific.

Precuneus activation is consistently reported in tasks with mental imagery, self-processing and autobiographical memory retrieval [54,55]. The precuneus is also a principal part of the so-called default brain network (DBN), which is connected to self-referential mental activity during rest and its

activity is decreased during externally goal-directed activity [56,57]. The magnitude of its deactivation was found to be proportional to task demands and task performance [58–61].

Several studies documented the relation between DA transmission and precuneus activity. Increased dopamine transporter (DAT) concentration in the striatum, causing decreased dopamine transmission was shown to reduce the deactivation of the precuneus during a visual attention task [62]. On the other hand, homozygotes of val/val catechol-O-methyl transferase (COMT) polymorphism with lower synaptic dopamine levels exhibited a greater deactivation of the precuneus and posterior cingulate cortex (PCC) while performing a working memory task [63].

Previous studies have shown conflicting results regarding dysfunction of DBN in PD and its modulation by DA therapy. Results of two studies suggest reversed pattern of DBN behavior, i.e. activation during an executive task and deactivation during a control task in DA-depleted PD patients, which is normalized after levodopa intake. These studies also showed dissociation between the anterior and posterior parts of DBN, since changes in activity were pronounced in the precuneus/PCC while the medial prefrontal cortex was relatively unaffected [64,65]. Moreover, inability to deactivate DBN correlated with a worse task performance [65]. These results suggest that the successful performance of an executive task requires deactivation of DBN. On the other hand, Argyelan et al. found that the effects of levodopa on DBN activity differs according to baseline task performance. In PD patients with poor baseline performance, levodopa increased precuneus activity, while improving the performance of the sequence learning task. The opposite was true for PD patients with good baseline performance, where levodopa reduced precuneus activation and led to a loss of medial prefrontal cortex deactivation [66]. In line with their findings, we found better performance, i.e. amelioration of migration effect, in the ON condition, while deactivation response in precuneus was reduced.

The gradual decrease of precuneus activity observed in our study during the encoding phase regardless of the interval duration or medication condition may thus reflect gradual DBN deactivation with an increasing memory load as the duration is being remembered. It is not clear, whether the higher activity of the precuneus during reproduction of long intervals in the ON condition is a compensatory activity or an aberrant activity coming from the inability to suppress DBN. Several factors favor the compensatory hypothesis. First, task performance tended to improve in the ON condition. Second, there is no general dysfunction of DBN in the ON condition, since it is capable of normal deactivation during the encoding phase. Third, migration effect arises from dysfunctional retrieval phase of TRT and the precuneus has a role in episodic memory retrieval [54]. Our behavioral data suggest that the perception of longer intervals is more distorted when compared to shorter intervals and that the change in precuneus activity also differed only during the reproduction of long intervals. It is likely that longer intervals need more episodic memory resources for retrieval and thus higher activity in the precuneus may reflect increased need for memory retrieval capacity. We can speculate that besides averaging, which seems to be the brain default strategy when attention and working memory processes are not working reliably, memory retrieval dysfunction may contribute to underestimation of longer intervals. Memory of longer intervals is prone to decay [67] and the consequent retrieval of less information from the memory may lead to time interval underestimation

proportional to the duration of the reproduced interval. Increased precuneus activity in the ON condition may reflect compensatory activity for the memory retrieval deficit.

Although it is not clear whether our finding relates specifically to time perception, it shows that the effect of DA medication on cognition and precuneus activity in PD patients is not straightforward. Our results together with previous studies [62–66] suggest that DA transmission may increase or decrease precuneus activity during cognitive task depending on task characteristics, baseline performance and also possibly on PD stage.

Summary

We found higher precuneus activation during the reproduction phase of time reproduction task in PD patients while on medication compared to after dopaminergic medication withdrawal. This phenomenon may compensate for abnormal retrieval of time intervals from memory, which has been suggested to underlie the migration effect.

Acknowledgments

We would like to thank Irena Stárková and Zuzana Kordová for keeping the patients' database and office work assistance.

Reference List

1. Pouthas V, Perbal S (2004) Time perception depends on accurate clock mechanisms as well as unimpaired attention and memory processes. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 64: 367-385.
2. Pastor MA, Artieda J, Jahanshahi M, Obeso JA (1992) Time estimation and reproduction is abnormal in Parkinson's disease. *Brain* 115 Pt 1: 211-225.
3. Artieda J, Pastor MA, Lacruz F, Obeso JA (1992) Temporal discrimination is abnormal in Parkinson's disease. *Brain* 115 Pt 1: 199-210.
4. Meck WH (1996) Neuropharmacology of timing and time perception. *Brain Res Cogn Brain Res* 3: 227-242.
5. Jones CR, Malone TJ, Dirnberger G, Edwards M, Jahanshahi M (2008) Basal ganglia, dopamine and temporal processing: performance on three timing tasks on and off medication in Parkinson's disease. *Brain Cogn* 68: 30-41. S0278-2626(08)00158-9 [pii];10.1016/j.bandc.2008.02.121 [doi].
6. Merchant H, Luciana M, Hooper C, Majestic S, Tuite P (2008) Interval timing and Parkinson's disease: heterogeneity in temporal performance. *Exp Brain Res* 184: 233-248. 10.1007/s00221-007-1097-7 [doi].
7. Riesen JM, Schnider A (2001) Time estimation in Parkinson's disease: normal long duration estimation despite impaired short duration discrimination. *J Neurol* 248: 27-35.
8. Schnider A, Gutbrod K, Hess CW (1995) Motion imagery in Parkinson's disease. *Brain* 118 (Pt 2): 485-493.
9. Coslett HB, Wiener M, Chatterjee A (2010) Dissociable neural systems for timing: evidence from subjects with basal ganglia lesions. *PLoS One* 5: e10324. 10.1371/journal.pone.0010324 [doi].

10. Beste C, Saft C, Andrich J, Muller T, Gold R, Falkenstein M (2007) Time processing in Huntington's disease: a group-control study. *PLoS One* 2: e1263. 10.1371/journal.pone.0001263 [doi].
11. Sysoeva OV, Tonevitsky AG, Wackermann J (2010) Genetic determinants of time perception mediated by the serotonergic system. *PLoS One* 5. 10.1371/journal.pone.0012650 [doi].
12. Malapani C, Rakitin B, Levy R, Meck WH, Deweer B, Dubois B, Gibbon J (1998) Coupled temporal memories in Parkinson's disease: a dopamine-related dysfunction. *J Cogn Neurosci* 10: 316-331.
13. Malapani C, Deweer B, Gibbon J (2002) Separating storage from retrieval dysfunction of temporal memory in Parkinson's disease. *J Cogn Neurosci* 14: 311-322.
14. Koch G, Brusa L, Caltagirone C, Oliveri M, Peppe A, Tiraboschi P, Stanzione P (2004) Subthalamic deep brain stimulation improves time perception in Parkinson's disease. *Neuroreport* 15: 1071-1073.
15. Koch G, Brusa L, Oliveri M, Stanzione P, Caltagirone C (2005) Memory for time intervals is impaired in left hemi-Parkinson patients. *Neuropsychologia* 43: 1163-1167.
16. Harrington DL, Haaland KY, Knight RT (1998) Cortical networks underlying mechanisms of time perception. *J Neurosci* 18: 1085-1095.
17. Lewis PA, Miall RC (2003) Brain activation patterns during measurement of sub- and supra-second intervals. *Neuropsychologia* 41: 1583-1592.
18. Koch G, Oliveri M, Brusa L, Stanzione P, Torriero S, Caltagirone C (2004) High-frequency rTMS improves time perception in Parkinson disease. *Neurology* 63: 2405-2406.
19. Coull JT, Cheng RK, Meck WH (2011) Neuroanatomical and neurochemical substrates of timing. *Neuropsychopharmacology* 36: 3-25. npp2010113 [pii];10.1038/npp.2010.113 [doi].
20. Rubia K, Smith A (2004) The neural correlates of cognitive time management: a review. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 64: 329-340.
21. Lewis PA, Miall RC (2003) Distinct systems for automatic and cognitively controlled time measurement: evidence from neuroimaging. *Curr Opin Neurobiol* 13: 250-255.
22. Wiener M, Turkeltaub P, Coslett HB (2010) The image of time: a voxel-wise meta-analysis. *Neuroimage* 49: 1728-1740. S1053-8119(09)01063-5 [pii];10.1016/j.neuroimage.2009.09.064 [doi].
23. Carbon M, Marie RM (2003) Functional imaging of cognition in Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol* 16: 475-480.
24. Huang C, Mattis P, Tang C, Perrine K, Carbon M, Eidelberg D (2007) Metabolic brain networks associated with cognitive function in Parkinson's disease. *Neuroimage* 34: 714-723. S1053-8119(06)00932-3 [pii];10.1016/j.neuroimage.2006.09.003 [doi].
25. Cerasa A, Hagberg GE, Peppe A, Bianciardi M, Gioia MC, Costa A, Castriota-Scanderbeg A, Caltagirone C, Sabatini U (2006) Functional changes in the activity of cerebellum and frontostriatal regions during externally and internally timed movement in Parkinson's disease. *Brain Res Bull* 71: 259-269. S0361-9230(06)00272-3 [pii];10.1016/j.brainresbull.2006.09.014 [doi].
26. Elsinger CL, Rao SM, Zimbelman JL, Reynolds NC, Blindauer KA, Hoffmann RG (2003) Neural basis for impaired time reproduction in Parkinson's disease: an fMRI study. *J Int Neuropsychol Soc* 9: 1088-1098.

27. Jahanshahi M, Jones CR, Zijlmans J, Katzenschlager R, Lee L, Quinn N, Frith CD, Lees AJ (2010) Dopaminergic modulation of striato-frontal connectivity during motor timing in Parkinson's disease. *Brain* 133: 727-745. awq012 [pii];10.1093/brain/awq012 [doi].
28. Yu H, Sternad D, Corcos DM, Vaillancourt DE (2007) Role of hyperactive cerebellum and motor cortex in Parkinson's disease. *Neuroimage* 35: 222-233. S1053-8119(06)01175-X [pii];10.1016/j.neuroimage.2006.11.047 [doi].
29. Harrington DL, Castillo GN, Greenberg PA, Song DD, Lessig S, Lee RR, Rao SM (2011) Neurobehavioral mechanisms of temporal processing deficits in Parkinson's disease. *PLoS One* 6: e17461. 10.1371/journal.pone.0017461 [doi].
30. Wackermann J (2007) Inner and outer horizons of time experience. *Span J Psychol* 10: 20-32.
31. Deuschl G, Schade-Brittinger C, Krack P, Volkmann J, Schafer H, Botzel K, Daniels C, Deutschlander A, Dillmann U, Eisner W, Gruber D, Hamel W, Herzog J, Hilker R, Klebe S, Kloss M, Koy J, Krause M, Kupsch A, Lorenz D, Lorenzl S, Mehdorn HM, Moringlane JR, Oertel W, Pinsker MO, Reichmann H, Reuss A, Schneider GH, Schnitzler A, Steude U, Sturm V, Timmermann L, Tronnier V, Trottenberg T, Wojtecki L, Wolf E, Poewe W, Voges J (2006) A randomized trial of deep-brain stimulation for Parkinson's disease. *N Engl J Med* 355: 896-908. 355/9/896 [pii];10.1056/NEJMoa060281 [doi].
32. Jech R, Dusek P, Wackermann J, Vymazal J (2005) Cumulative blood oxygenation-level-dependent signal changes support the 'time accumulator' hypothesis. *Neuroreport* 16: 1467-1471.
33. Turner R, Howseman A, Rees GE, Josephs O, Friston K (1998) Functional magnetic resonance imaging of the human brain: data acquisition and analysis. *Exp Brain Res* 123: 5-12.
34. Lohmann G, Muller K, Bosch V, Mentzel H, Hessler S, Chen L, Zysset S, von Cramon DY (2001) LIPSIA--a new software system for the evaluation of functional magnetic resonance images of the human brain. *Comput Med Imaging Graph* 25: 449-457. S0895611101000088 [pii].
35. Evans AC, Marrett S, Neelin P, Collins L, Worsley K, Dai W, Milot S, Meyer E, Bub D (1992) Anatomical mapping of functional activation in stereotactic coordinate space. *Neuroimage* 1: 43-53. 1053-8119(92)90006-9 [pii].
36. Talairach, J. and Tournoux, P. (1998) Co-planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain: 3-Dimensional Proportional System - an Approach to Cerebral Imaging. New York: Thieme Medical Publishers.
37. Friston KJ, Holmes AP, Poline JB, Grasby PJ, Williams SC, Frackowiak RS, Turner R (1995) Analysis of fMRI time-series revisited. *Neuroimage* 2: 45-53. S1053-8119(85)71007-5 [pii];10.1006/nimg.1995.1007 [doi].
38. Friston KJ, Frith CD, Turner R, Frackowiak RS (1995) Characterizing evoked hemodynamics with fMRI. *Neuroimage* 2: 157-165. S105381198571018X [pii].
39. Worsley KJ, Friston KJ (1995) Analysis of fMRI time-series revisited--again. *Neuroimage* 2: 173-181. S1053-8119(85)71023-3 [pii];10.1006/nimg.1995.1023 [doi].
40. Friston KJ, Josephs O, Rees G, Turner R (1998) Nonlinear event-related responses in fMRI. *Magn Reson Med* 39: 41-52.
41. Josephs O, Turner R, Friston K (1997) Event-related fMRI. *Hum Brain Mapp* 5: 243-248. 10.1002/(SICI)1097-0193(1997)5:4<243::AID-HBM7>3.0.CO;2-3 [doi].
42. Gibbon J, Malapani C, Dale CL, Gallistel C (1997) Toward a neurobiology of temporal cognition: advances and challenges. *Curr Opin Neurobiol* 7: 170-184.

43. Shea-Brown E, Rinzel J, Rakitin BC, Malapani C (2006) A firing rate model of Parkinsonian deficits in interval timing. *Brain Res* 1070: 189-201.
44. Koch G, Costa A, Brusa L, Peppe A, Gatto I, Torriero S, Gerfo EL, Salerno S, Oliveri M, Carlesimo GA, Caltagirone C (2008) Impaired reproduction of second but not millisecond time intervals in Parkinson's disease. *Neuropsychologia* 46: 1305-1313. S0028-3932(07)00440-X [pii];10.1016/j.neuropsychologia.2007.12.005 [doi].
45. von Vierodt, K. (1868) *Der Zeitsinn nach Versuchen*. Tübingen: H. Laupp.
46. Jazayeri M, Shadlen MN (2010) Temporal context calibrates interval timing. *Nat Neurosci* 13: 1020-1026. nn.2590 [pii];10.1038/nn.2590 [doi].
47. Buetti D, Walsh V (2010) Memory for time distinguishes between perception and action. *Perception* 39: 81-90.
48. Harrington DL, Boyd LA, Mayer AR, Sheltraw DM, Lee RR, Huang M, Rao SM (2004) Neural representation of interval encoding and decision making. *Brain Res Cogn Brain Res* 21: 193-205.
49. Wittmann M, van Wassenhove V, Craig AD, Paulus MP (2010) The neural substrates of subjective time dilation. *Front Hum Neurosci* 4: 2. 10.3389/neuro.09.002.2010 [doi].
50. van Wassenhove V, Buonomano DV, Shimojo S, Shams L (2008) Distortions of subjective time perception within and across senses. *PLoS One* 3: e1437. 10.1371/journal.pone.0001437 [doi].
51. Huang C, Tang C, Feigin A, Lesser M, Ma Y, Pourfar M, Dhawan V, Eidelberg D (2007) Changes in network activity with the progression of Parkinson's disease. *Brain* 130: 1834-1846. awm086 [pii];10.1093/brain/awm086 [doi].
52. Asanuma K, Tang C, Ma Y, Dhawan V, Mattis P, Edwards C, Kaplitt MG, Feigin A, Eidelberg D (2006) Network modulation in the treatment of Parkinson's disease. *Brain* 129: 2667-2678.
53. Goerendt IK, Lawrence AD, Mehta MA, Stern JS, Odin P, Brooks DJ (2006) Distributed neural actions of anti-parkinsonian therapies as revealed by PET. *J Neural Transm* 113: 75-86.
54. Cavanna AE, Trimble MR (2006) The precuneus: a review of its functional anatomy and behavioural correlates. *Brain* 129: 564-583.
55. Spreng RN, Mar RA, Kim ASN (2009) The Common Neural Basis of Autobiographical Memory, Propection, Navigation, Theory of Mind, and the Default Mode: A Quantitative Meta-analysis. *Journal of Cognitive Neuroscience* 21: 489-510.
56. Gusnard DA, Akbudak E, Shulman GL, Raichle ME (2001) Medial prefrontal cortex and self-referential mental activity: relation to a default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 4259-4264.
57. Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL (2001) A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 676-682.
58. McKiernan KA, Kaufman JN, Kucera-Thompson J, Binder JR (2003) A parametric manipulation of factors affecting task-induced deactivation in functional neuroimaging. *J Cogn Neurosci* 15: 394-408.
59. Broyd SJ, Demanuele C, Debener S, Helps SK, James CJ, Sonuga-Barke EJ (2009) Default-mode brain dysfunction in mental disorders: a systematic review. *Neurosci Biobehav Rev* 33: 279-296. S0149-7634(08)00150-4 [pii];10.1016/j.neubiorev.2008.09.002 [doi].

60. Sambataro F, Murty VP, Callicott JH, Tan HY, Das S, Weinberger DR, Mattay VS (2010) Age-related alterations in default mode network: impact on working memory performance. *Neurobiol Aging* 31: 839-852. S0197-4580(08)00187-5 [pii];10.1016/j.neurobiolaging.2008.05.022 [doi].
61. Kincses ZT, Johansen-Berg H, Tomassini V, Bosnell R, Matthews PM, Beckmann CF (2008) Model-free characterization of brain functional networks for motor sequence learning using fMRI. *Neuroimage* 39: 1950-1958.
62. Tomasi D, Volkow ND, Wang RL, Telang F, Wang GJ, Chang L, Ernst T, Fowler JS (2009) Dopamine Transporters in Striatum Correlate with Deactivation in the Default Mode Network during Visuospatial Attention. *Plos One* 4.
63. Stokes PRA, Rhodes RA, Grasby PM, Mehta MA (2011) The Effects of The COMT val(108/158) met Polymorphism on BOLD Activation During Working Memory, Planning, and Response Inhibition: A Role for The Posterior Cingulate Cortex? *Neuropsychopharmacology* 36: 763-771.
64. Delaveau P, Salgado-Pineda P, Fossati P, Witjas T, Azulay JP, Blin O (2010) Dopaminergic modulation of the default mode network in Parkinson's disease. *Eur Neuropsychopharmacol* 20: 784-792. S0924-977X(10)00147-1 [pii];10.1016/j.euroneuro.2010.07.001 [doi].
65. van Eimeren T., Monchi O, Ballanger B, Strafella AP (2009) Dysfunction of the default mode network in Parkinson disease: a functional magnetic resonance imaging study. *Arch Neurol* 66: 877-883. 66/7/877 [pii];10.1001/archneurol.2009.97 [doi].
66. Argyelan M, Carbon M, Ghilardi MF, Feigin A, Mattis P, Tang C, Dhawan V, Eidelberg D (2008) Dopaminergic suppression of brain deactivation responses during sequence learning. *J Neurosci* 28: 10687-10695. 28/42/10687 [pii];10.1523/JNEUROSCI.2933-08.2008 [doi].
67. Wackermann J, Ehm W (2006) The dual klepsydra model of internal time representation and time reproduction. *J Theor Biol* 239: 482-493. S0022-5193(05)00359-0 [pii];10.1016/j.jtbi.2005.08.024 [doi].

Figures and Legends

Figure 1: Mean interval reproductions.

Mean reproduced durations \pm SD for all subjects in the OFF (blue) and ON (green) conditions. Direct comparison between the ON and OFF condition was significant only for the 16.8 s interval (paired t-test, $p < 0.01$).

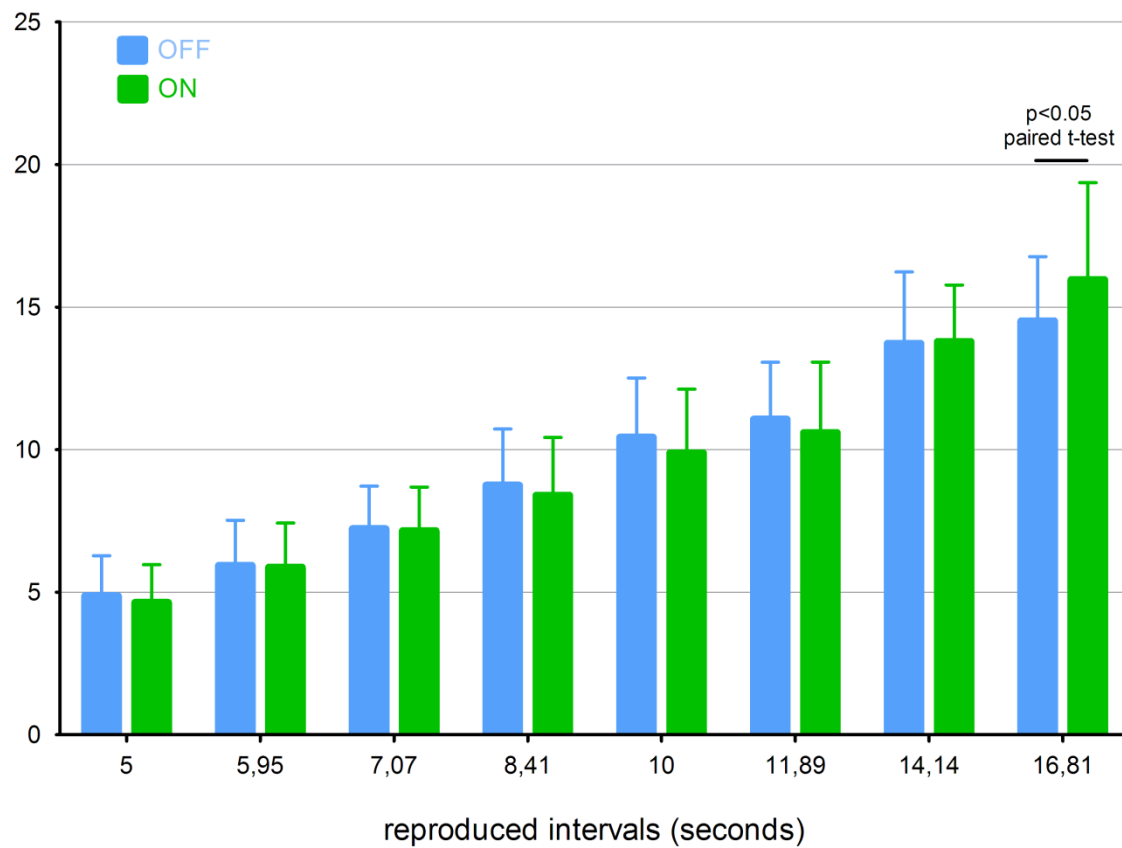


Figure 2: Area activated in the reproduction phase, ON > OFF.

On the left, results of the second-level group analysis ($p < 0.05$ corrected) are rendered to a structural MRI image using `vlrender` function from `Lipsia` package. On the right, the mean contrast estimate plots \pm SD in the right precuneus (coordinates 4 -62 26) during encoding (left) and reproduction (right) phases. There was deactivation of the precuneus found in all four conditions (encoding ON, encoding OFF, reproduction ON, reproduction OFF). Comparison between OFF (blue) and ON (green) conditions was significant only during the reproduction phase (paired t-test, $p < 0.001$), when deactivation was more marked in the OFF condition.

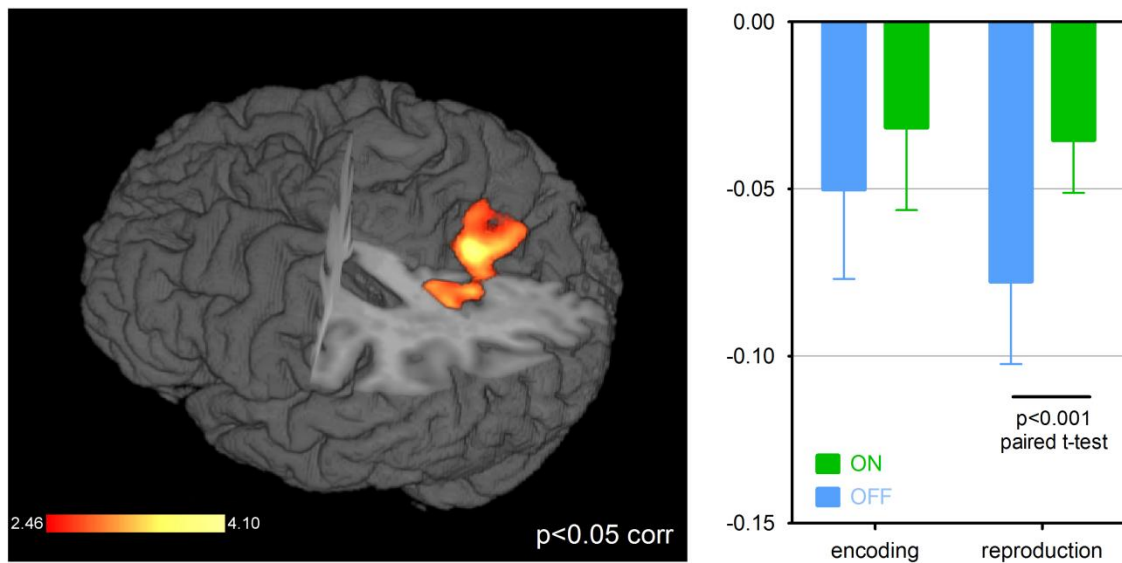


Figure 3: Time-course plot of the activity in precuneus (coordinates 4 -62 26) during reproduction phase.

Each dot represents mean activity in a time point for all trials of one subject in OFF (blue) and ON (green) conditions. Lines connect group means for all subjects. For better clarity, dots are jittered.

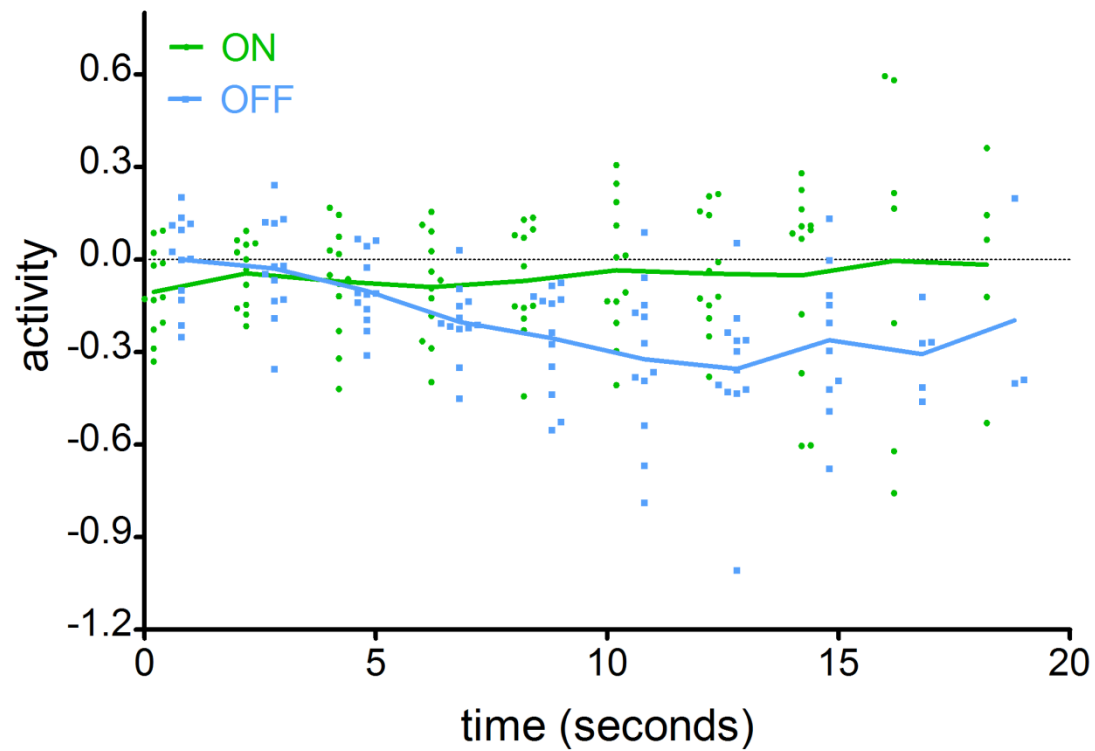
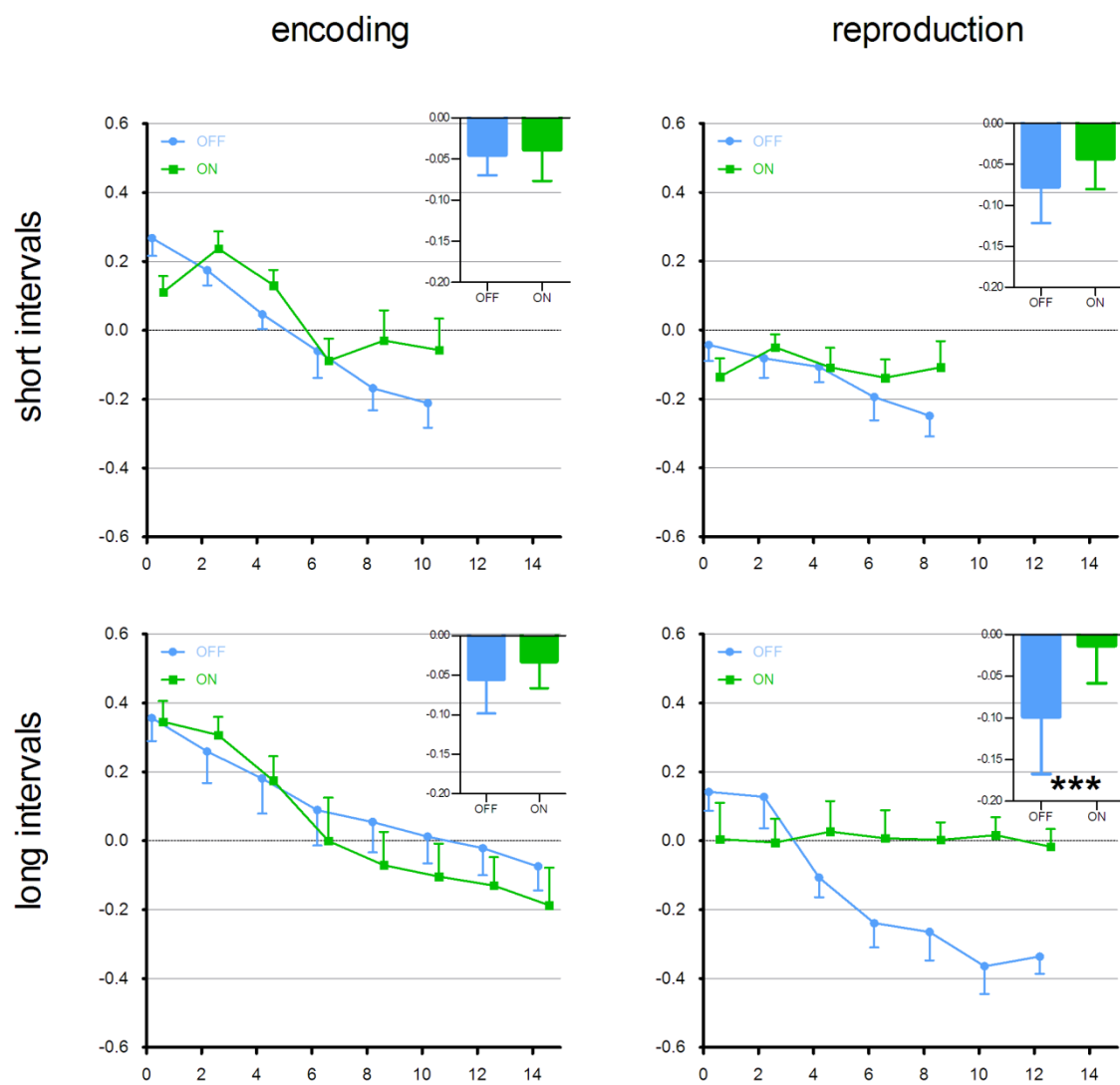


Figure 4: Time-course plots of the activity in the precuneus (coordinates 4 -62 26) according to the phase and interval duration.

Activity is plotted during encoding short (upper left), encoding long (lower left), reproduction short (upper right) and reproduction long (lower right) conditions. Group means \pm standard error of mean (SEM) for OFF (blue) and ON (green) conditions are depicted. Time points, where at least 3 observations per subject and 6 subjects per time point were not available, were excluded. Therefore encoding of short intervals was followed up to 10 seconds, encoding of long intervals up to 14 seconds, reproduction of short intervals up to 8 seconds and reproduction of long intervals up to 12 seconds. Bars in the upper right corner of each graph represent overall contrast estimate mean \pm SD for each condition. The comparison between OFF and ON conditions yielded significant differences only for the reproduction of long intervals (marked with ***, paired t-test $p < 0.001$).



Tables

Table 1: reproduced durations (mean±SD)

	5 s	5.946 s	7.071 s	8.409 s	10 s	11.892 s	14.142 s	16.818 s
OFF	4.87±1.4	5.93±1.6	7.22±1.5	8.74±2.0	10.43±2.1	11.06±2.0	13.72±2.5	14.51±2.3
ON	4.63±1.3	5.87±1.6	7.15±1.5	8.39±2.0	9.88±2.3	10.59±2.5	13.79±2.0	15.96±3.4

Table 2: fMRI group results of the reproduction phase (computed in Lipsia)

region	BA	coordinates (x, y, z)				volume (mm ³)	Z score (max)	p value
ON > OFF								
Left precuneus	7	-8	-66	38	320	-3..67	0..001*	
Right precuneus	31	4	-62	26	280	-3..55	0..003*	

* significant at p<0.05 corrected